

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

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

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION **EDITORIAL BOARD**

AKAPANTHU S. (Thaïlande / <i>Thailand</i>)	LEGAY J.-M. (France)
BEAULATON J. (France)	LIU S.-X. (Chine / <i>China</i>)
BECK D. (France)	LU H.-S. (Chine / <i>China</i>)
BOSQUET G. (France)	MANO Y. (Japon / <i>Japan</i>)
CROIZIER G. (France)	MAUCHAMP B. (France)
COUBLE P. (France)	PERSOONS C.J. (Pays-Bas / <i>The Netherlands</i>)
DANDIN S.B. (Inde / <i>India</i>)	PRUDHOMME J.-C. (France)
DAS B.C. (Inde / <i>India</i>)	REALI G. (Italie / <i>Italy</i>)
DATTA R.K. (Inde / <i>India</i>)	SHIMURA K. (Japon / <i>Japan</i>)
DOIRA H. (Japon / <i>Japan</i>)	SHIRATA A. (Japon / <i>Japan</i>)
FONSECA T.C. (Brésil / <i>Brazil</i>)	SOMASHEKAR T.H. (Inde / <i>India</i>)
FOURCHE J. (France)	SONWALKAR T.N. (Inde / <i>India</i>)
FREDDI G. (Italie / <i>Italy</i>)	TAKAHASHI R. (Brésil / <i>Brazil</i>)
GOLDSMITH M.R. (USA)	TAZIMA Y. (Japon / <i>Japan</i>)
HORIE Y. (Japon / <i>Japan</i>)	TRENCZEK T. (Rép. tchèque / <i>Czech Republic</i>)
IATROU K. (Canada)	VAGO C. (France)
JOLLY M.S. (Inde / <i>India</i>)	VEY A. (France)
KOBAYASHI M. (Japon / <i>Japan</i>)	XIA J.-G. (Chine / <i>China</i>)
LEA H. Z. (Corée / <i>Korea</i>)	YAMASHITA O. (Japon / <i>Japan</i>)
	YANAGAWA H. (Japon / <i>Japan</i>)

SOMMAIRE - CONTENTS

Revue / Review

Bacterial diseases of mulberry (<i>Morus</i> spp.)	1
Maladies bactériennes du mûrier	9
M. D. MAJI & S. M. H. QADRI	

Articles scientifiques / Scientific papers

Comparison of the variation in cocoon quality among the single, three - way and double cross hybrids in the silkworm, <i>Bombyx mori</i>	15
Comparaison des variations de qualité des cocons chez les hybrides simples, doubles et trois voies chez le ver à soie <i>Bombyx mori</i>	27
K. W. SOHN & L. RAMIREZ	

Transient expression of β - glucuronidase gene transferred into leaf tissues of mulberry seedlings by the particle inflow gun	33
Expression transitoire du gène de la β - glucuronidase transplanté dans des tissus foliaires de pousses de mûrier à l'aide d'un canon à particules	39
Y. SUGIMURA, T. ADACHI, Y. UEDA, M. ABE, E. KOTANI & T. FURUSAWA	

Varietal differences on karyomorphology of some popular cultivars in mulberry (<i>Morus</i> spp.)	43
Différences variétales de la caryomorphologie chez quelques cultivars communs du mûrier (<i>Morus</i> spp)	51
S. P. CHAKRABORTI, K. VIJAYAN, S. G. DOSS, B. N. ROY & S. M. H. QADRI	

Influence of mulberry leaf nutrition and BmCPV infection on disease development and some cocoon traits in <i>Bombyx mori</i> L.	55
Influence de la nutrition des feuilles de mûriers et de l'infestation par BmCPV sur le développement de la maladie et certains caractères du cocon chez <i>Bombyx mori</i> L.	63
R. N. BHASKAR, R. GOVINDAN, M. C. DEVAIAH & D. RADHAKRISHNA	

Rapports techniques / Technical reports

Comparative nutritive value of bush and tree mulberry leaves in bivoltine seed rearing	67
Comparaison de la valeur nutritive des feuilles de mûriers provenant de buissons en tailles basses et d'arbres dans l'élevage pour la production d'oeufs bivoltins	73
V. G. MARIBASHETTY, R. RAGHURAMAN, H. VENKATESH & S. PUTTASWAMY	

Screening of mulberry varieties for resistance to leaf rust caused by <i>Peridiopsora mori</i>	77
Evaluation de variétés de mûrier pour leur résistance à la rouille causée par <i>Peridiopsora mori</i>	91
K. V. PRASAD, B. R. DAYAKAR YADAV & S. B. SULLIA	

Seasonal life table of the Indian wild tasar silkmoth <i>Antheraea paphia</i> Linn. (<i>Lepidoptera: Saturniidae</i>)	97
Cycle saisonnier du papillon tasar sauvage indien <i>Antheraea paphia</i> Linn. (<i>Lepidoptera: Saturniidae</i>)	121
B. K. NAYAK & M. C. DASH	

Notes brèves / Brief notes

Responses of maxillary sensilla styloconica in <i>Bombyx mori</i> to glucosides from the traveler's joy, <i>Clematis peniculata</i>, a nonhost plant	129
Réponses du palpe maxillaire de <i>Bombyx mori</i> aux glucosides de la clématite, <i>Clematis peniculata</i> , une plante non hôte	133
T. SHIMIZU & K. ASAOKA	

Seasonal intensity of infestation of stem borer, <i>Zeuzera indica</i> Herrich (<i>Lepidoptera</i>) in Som, <i>Machilus bombycina</i> King and Soalu, <i>Litsaea polyantha</i> Juss and its control	135
Intensité saisonnière et lutte contre l'infestation par la mineuse de la tige, <i>Zeuzera indica</i> Herrich (<i>Lepidoptera</i>), chez Som, <i>Machilus bombycina</i> King et Soalu, <i>Litsaea polyantha</i> Juss	141
P. K. SINGH & P. K. DAS	

Bibliographie / Bibliography	143
Sériciculture générale / General sericulture	145
Mûrier / Mulberry	147
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	151
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non-mulberry silkworms: rearing, feeding pathology	153
Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics	155
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry	159
Vers à soie : oeufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology	163
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms: silk glands	165
Soie / Silk	167

Instructions aux auteurs / Information for contributors

BACTERIAL DISEASES OF MULBERRY (*MORUS* SPP)

M. D. MAJI & S.M.H. QADRI*

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore - 742 101, W.B., India.

Keywords: Mulberry, bacterial diseases. *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, *P. solanacearum*, *Xanthomonas campestris* pv. *mori*, *Erwinia carotovora* var. *carotovora*.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus* spp) is a hardy perennial plant well adapted to a wide range of soil and climatic conditions. Depending upon the agroclimatic conditions, the soil type, the altitude and other factors, it is cultivated either as a tree, middle bush or bush for the commercial production of leaves which is the sole food of the silkworm (*Bombyx mori* L.). Mulberry leaf protein is utilised by the silkworm for the bio-synthesis of silk. Nearly 70% of the silk protein production by the silkworm is directly derived from the proteins of mulberry leaves. The quality of the mulberry leaf, therefore, plays a direct role in the quality and quantity of the silkworm cocoon production.

Mulberry is affected by a large number of diseases caused by a variety of fungi, bacteria, mycoplasmas, viruses, nematodes and also by non-parasitic diseases due to physiological disorders (Yokoyama, 1962; Rangaswami *et al.*, 1978; Sastry, 1984; Shree and Santa Kumari, 1986; Sengupta *et al.*, 1990; Ganga and Chetty, 1991; Yoshihiko, 1995). Diseases, irrespective of the nature of the causal agents, interfere with the physiology of the host leading to a considerable damage to the plant. In mulberry, loss in leaf yield (Sikdar & Krishnaswami, 1980), reduction in the nutritive value of mulberry foliage, i.e. protein, amino acids and sugar, changes in the moisture contents, chlorophyll, carotene, polyphenol etc. are reported (Chanturiya, 1968; Sundareswaran *et al.*, 1988; Umesh Kumar, 1991). Feeding of diseased leaves has also been found to prolong larval duration, reduce the cocoon yield and silk quality (Noamani *et al.*, 1970; Iyengar, 1975; Sikdar *et al.*, 1979; Sullia and Padma, 1987; Siddaramaiah and Hedge, 1988; Umesh Kumar *et al.*, 1993).

Phytopathogenic bacteria inciting diseases in mulberry belong to mainly three genera namely *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and *Erwinia*. Types of diseases caused by these pathogens are grouped as blight, leaf spots, wilts and soft rot. In mulberry, bacterial diseases have not received sufficient attention as a result a lot of information still prevails in the literature without revision as could be seen in the works of Yokoyama, 1962; Rangaswami *et al.*, 1978; Shree and Santa Kumari, 1986; Ganga and Chetty, 1991; Teotia and Sen, 1994 and Biswas and Sengupta, 1994. The aim of the present review is, therefore, to update the information available on bacterial diseases of mulberry.

BLIGHT DISEASES

Blight diseases of mulberry are caused by *Pseudomonas syringae* pv. *mori* Boyer & Lambert (Young *et al.*, 1978), *Bacterium mori* Boyer and Lambert, *Bacillus cubonianus* Macchiati, *Bacterium cubonianum* Ferraris, *Pseudomonas mori* Boyer and Lambert Steven are synonym of *Pseudomonas*

* Zonal Silkworm Seed Project Office, Lucknow - 226019, UP, India.

syringae Pv. *mori* Boyer and Lambert (Young *et al.*, 1978). *Xanthomonas campestris* pv. *mori* has also been recently reported to cause blight in mulberry from West Bengal (Maji *et al.*, 1996b). On the basis of the disease symptoms they are however classified into the following two types.

- i. Shoot/twig blight
- ii. Leaf blight

1. Mulberry shoot/twig blight:

Mulberry blight was first reported from the United States in 1910 by Smith. Subsequently the disease was also reported by Doidge (1915) from South Africa, Dowson (1932) from Australia, Wormald (1939) from England Sato and Takahashi (1972) from Japan, Novak and Lauzova (1983) from Czechoslovakia, Zhu *et al.*, (1985) from China and Akhtar and Sarwar (1988) from Pakistan. The most conspicuous symptom consists of a general die back of twigs and stunting of young trees. Expanding buds are attacked and bear a large blackened arca. Some irregularly shaped brown to black spots surrounded by a yellow halo develop on the lamina and veins and leaves get curled and distorted. Elongated ragged lesions appear on the young shoots which are often killed. Bacteria exude from the lesions during wet weather (Dowson 1957).

2. Bacterial leaf blight:

Bacterial leaf blight of mulberry was first reported from Uttar Pradesh, India (Sinha and Saxena, 1966). Subsequently the disease was reported from other Indian states like Karnataka (Krishna Prasad and Siddaramaiah), Tamilnadu (Gangwar and Thangavelu, 1991), West Bengal (Anonymous, 1991-92, Teotia and Mandal, 1993), Andhra Pradesh, Karnataka and Kerala (Gunasekhar *et al.*, 1994).

Following the onset of monsoon, small, water soaked spots appear initially on the lower surface which later develop on the upper surface too. These spots turn brown surrounded by a yellow margin. The younger leaves get crinkled, distorted and curved outward and drop prematurely. The vein and veinlet infection is also common. On the stem, the symptoms consist of dark irregular sunken lesions which also coalesce in severe stages.

Another type of leaf blight is characterised by the presence of a yellow margin around the blighted portion called halo blight and upon felling off necrotic tissues the spots form shot hole. It is caused by a new strain of *Pseudomonas syringae* pv. *mori* reported from the Shimane prefecture in Japan (Takahashi and Sato, 1977). Beside this, chlorosis of young shoot is also observed.

Sato *et al.*, (1981) developed selective media PM-1 and PM-2 for isolating *P. syringae* pv. *mori* from the soil. The media contain saccharose (PM-1) or sorbitol (PM-2) as carbon source and also phenol red, methylviolet phenethicillin, potassium, ampicillin sodium, cetyl-trimethylammonium bromide and cadmium chloride as selective agents.

The *P. Syringae* pv. *mori* is rod shaped measuring 1.8 to 4.5 μm in length and 0.9 to 1.3 μm in breadth. It is motile, gram negative and produces green fluorescent pigment in King's B medium. The colonies on nutrient agar medium are white in color, with a smooth and flat surface and an entire edge which gradually becomes undulated and grows slowly. The bacterium liquefies gelatine. It turns litmus milk into alkaline and clear. It is not capable of producing nitrites from nitrates. Indole production in the medium is either feeble or lacking. Hydrogen sulphide is not produced. It produces acid from carbohydrates but no gas is formed. Addition of 4% sodium chloride to the nutrient broth inhibits the growth of the bacterium. Turkoglu and Oktem (1973) reported that the tests for oxidative metabolism of glucose, ammonia production and hydrolysis of Tween 80 are positive while the tests for the presence of oxidase, indole production, starch hydrolysis, methyl red and casein hydrolysis are negative in the bacterium. Sands *et al.*, (1980) reported that *P. syringae* pv. *mori* utilised D-xylose, D-gluconate, acetate, tri-acetin, tripropionin, glutarate, L-malate, tri-capronin, L-tartrate, D-tartrate, meso-tartrate, DL- β hydroxybutyrate, DL-glycerate, L-ascorbate, iso-ascorbate, alpha-keto glutarate, L-histidine, L-tyrosine, Betaine, Sorbitol, quinate, DL-asparagine. Levan formation in sucrose agar is positive. Growth on media containing mannitol, inositol, trigonelline was reported to be positive

while the media containing betaine, quinate, L-tartarate, D-tartarate, L-lactate and hoemosyrine was reported to be negative.

Dowson (1957) suggested pruning of young trees in autumn followed by spraying of Bordeaux mixture as a control measure against mulberry blight disease. Chanturia and Labakhua (1963) found spray of 0.05-0.1% phyto bacteriomycin containing 1% glycerin more effective than bordeaux mixture. Moreover, it stimulated growth of the trees and increased resistance. In vitro, streptomycin sulphate, streptocycline, streptopenicillin were found effective in inhibition of bacteria even at 5 to 100 ppm (Krishna Prasad and Siddaramaiah, 1978). Gvinepadaze *et al.*, (1978) reported Benomyl, Dithane and Dithan M45 highly effective against the pathogen. Similarly, other formulations like, Foltaf and Captaf were also found effective in vitro (Sharma and Govindaiah 1991). As regards the role of 'N' nutrition in disease management it is reported that Azotobacter and Azospirillum based bio-fertilisers reduce bacterial blight more than 60% (Sharma *et al.*, 1994).

As far as host resistance to the disease is concerned the varieties like Bulgarian-3, Bulgarian-24, Thileseuri and Galicene from Romania exhibited some resistance to bacterial blight (Coteance, 1971). The *M. indica* and *M. alba* cultivars, Husung, China, Shine ichinose, Gumji and ichihie are reported to have a resistance both under field and also laboratory conditions in Pakistan (Pathan, 1987; Akhtar and Sarwar, 1988). In Japan mulberry varieties, Shimanouchi and Kenmochi belonging to the species *M. bombycis* are reported to be highly resistant to this disease (Anonymous, 1978). Similarly Shinichinose, Minamisakari and Roguwa are also reported to be highly resistant to bacterial blight (Takahashi, 1980). Under Indian conditions, Shrc and Boraiah (1988) reported 20 indigenous mulberry varieties, i.e. Berhampore, Berhampore local, Channapatna local, Coonoor series C-6, C-10, C-11, C-14, C-15, C-18, CRR Hakkikal, Jakkur local, Kajali, Kanva-2, MR2, Mysore local, S-36, S-41, S-54 and Yennergankaddi Farmer's field whereas exotic varieties like Goshoerami, Haraban, Italian, Kairyo-nezumigaeshi, Kosen, Kurangi, *Morus australis*, *M. cathayana*, *M. lebang*, *M. multicaulis*, Okinawa 2, Philippine, Popua, Tai-song-2 and 3 and Tsukasaguwa to be totally free from bacterial blight in the fields whereas the varieties Thailand, *M. alba*, *M. macroura*, *M. nigra* and Vietnam are highly susceptible.

Sato and Takahashi (1973a) reported that the population of bacterium decreases in summer, increases in autumn and maintains a definite level in winter. The population of bacteria decreased rapidly in non sterilised soil compared to sterilised soil. As regards longevity, the bacterium is reported to have survived for more than 100 days in dead leaves and more than 150 days in roots of mulberry (Sato and Takahashi, 1973 b). The bacterium overwinters in the dead leaves of the mulberry in the fields (Sato and Takahashi 1972). The population of bacteria was found higher before winter and decreased gradually with progress of time. The survivability of bacteria in dead leaves of mulberry is also affected by the climatic conditions. Low temperature and dry weather prolonged survivability of bacteria while it is shortened under high temperature and humidity (Kuibomila and Nakayama, 1975).

Sato and Takahashi (1983) reported the bacterial population in diseased living shoots and dried leaves to the tune of about $10^7/g$ and $10^5/g$ respectively which is much higher than that ($10^1/g$) of soil. The bacteria are also present in winter bud of healthy shoot at a low population.

BACTERIAL LEAF SPOT

Bacterial leaf spot in mulberry is caused by *Xanthomonas campestris* pv. *mori* Pammel (Dowson, Maji *et al.*, 1996). The disease was first reported from Korea by Choi *et al.*, (1988). Pandey and Singh (1989) reported the disease from Dehradun, Uttar Pradesh (India). Maji *et al.*, (1996b) reported the disease from West Bengal (India) and characterised the causal organisms namely as a new pathovar of *Xanthomonas campestris*, X.c. pv. *mori* Pammel (Dowson, Maji *et al.*, 1996).

The symptom of this disease comprises of numerous water soaked spots which initially appear on the lower surface of the leaf soon after the monsoon is set in. These later also appear on the upper

surface. They gradually turn brown, semi translucent and in the late stage the spots become brownish black surrounded by a yellow halo around the spot. The necrotic tissue within the spot fell off subsequently forming minute shot holes. Premature leaf fall at advanced stages of disease is also commonly found (Pandey and Singh, 1989; Maji *et al.*, 1996).

The bacterium is rod shaped, motile, gram negative. The colonies on nutrient agar are small, circular, convex, slow, growing yellowish in colour. The bacteria produce acid from carbohydrate but no gas, able to hydrolyse starch, casein, gelatine and are catalase positive (Maji *et al.*, 1996b).

Agrimycin at a concentration of 100 ppm is effective against the disease (Pandey and Singh, 1989). Maji *et al.*, (1996a) reported streptomycin sulphate, tetracycline oxychloride, oxytetracycline, Pushamycin, plantomycin, estamycin, centamycin and fungicide i.e. copper oxychloride quite effective against the pathogen.

Mulberry varieties S146, Punjab local, Phillipines are reported to be resistant while Kanva-2, Mandalay, Chinese are moderately resistant and C-776 is susceptible to disease (Pandey and Sing, 1989). Maji *et al.*, (1996a) reported that cultivars i.e. Kajli, S-1, C-776, K-2 exhibited a higher disease incidence compared to S-1635.

BACTERIAL WILT OF MULBERRY

Bacterial wilt of mulberry is caused by *Pseudomonas solanacearum* Smith. The disease is a great menace to the sericulture industry of China (Zing *et al.*, 1988). Mathew *et al.* (1994) reported the disease from Kerala (India) but has so far not assumed greater economic importance in India.

The disease affects the old root cuts, the clipped tops, and young saplings or seedlings. The conspicuous symptom of the disease consists of wilting of infected plants. The wilted plants however maintain a green colour. At the early stage of infection brown stripes are seen in the xylem, but on the later stage the stem and branches shrink. The seriously affected portion of the roots become black. The root bark gets rotten and fell off. Whitish slimy bacterial exudate is often seen from the cut portion of the infected root.

The bacterium is rod shaped, about 0.8-1.9 μ in length, gram negative, motile, with 1-3 polar flagella at each end. The colony is round, smooth, shiny, greyish white and later turns to pale brown. Optimum temperature and pH ranges from 28-36 °C and 7 to 8 respectively. Thermal death point is 53 °C for 10 minutes.

The pathogen is a soil inhabitant and survives in soil for several years. Diseased mulberry and other plants serve as a source of primary inoculum.

Factors like higher soil temperature and moisture, water logged conditions favour the growth of pathogen and predispose host plant to disease.

The disease can be controlled by strict implementation of quarantine measures coupled with preventive measures like the propagation of disease free and healthy saplings, removal and destruction of affected plants and application of disinfectants like 1:1000 formalin solution or 0.2% bleaching powder in the infected spots is recommended. Crop rotation with non solanaceous crop plants has also beneficial effects.

SHOOT SOFT ROT

The disease is caused by *Erwinia carotovara* var. *carotovara* James Dye. The disease was first reported from Japan (Takahashi and Sato, 1978). The association of the organism with dead parts of shoot types of mulberry is also reported by Yagita (1977).

The characteristic symptoms of the disease consist of soft rot and non sprouting of over-wintering shoot in early spring and soft rot of young shoot in middle or late spring. In case of a severe outbreak of the disease the mulberry shoots exude sap from the wounded portion of stock (Takahashi and Sato, 1978).

The bacteria are rod shaped, gram negative, motile, facultative anaerobic, catalase positive, oxidase negative, producing acid from carbohydrates.

CONCLUSION

It is evident from the text that bacterial diseases of mulberry remain less attended and were considered insignificant or of minor importance. Some of the bacterial diseases are now assuming a great importance and have become limiting factors for mulberry cultivation and leaf production.

The disease symptoms produced by bacterial leaf blight of mulberry as described by Krishna Prasad and Siddaramaiah (1978), Teotia and Mandal (1993) are similar. Of late, Maji *et al.* (1996a) reported that both bacterial leaf blight and bacterial leaf spot in West Bengal (India) are caused by *Xanthomonas campestris* pv *mori* instead of *Pseudomonas mori*. Moreover, disease symptoms produced by *P. mori* as described by Dowson (1957) are quite different. All this calls for urgent systematic studies on the bacterial leaf blight disease causing pathogen.

So far, the only chemicals commercially recommended for control of bacterial diseases are antibiotics i.e. streptomycin and tetracycline. The use of which should be banned as those are used in human/animal chemotherapy. Moreover, indiscriminate use of antibiotics may lead to development resistant phytopathogenic bacteria.

Nowadays, biological management of bacterial diseases is a potential area. More research concentration is urgently required to develop ecofriendly bio-degradable control measures.

REFERENCES

- AKTHAR M.A., SARWAR M. (1988) Mulberry bacterial blight in Pakistan. Pak J. Agric. Res. 9(3): 417-419.
- ANONYMOUS (1972) Hand book of silkworm rearing. Fuji Publication Co. Japan, pp 319.
- ANONYMOUS (1991-92) Annual Research and Administrative Report, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, West Bengal, India, pp 411.
- BISWAS & SENGUPTA K. (1994) Genetic control of disease resistance in mulberry. Sericologia 34(1): 33-42.
- CHANTURIYA N.N., LABAKHUA L. V. (1963) Listing of antibiotics to control bacterial infection in mulberry trees. Soobsch Akad Nauk Gruz SSR. 32(1): 141-148.
- CHANTURIYA N.N. (1968) Biochemical characteristics of mulberry leaves damaged by powdery mildew. Soobsch Akad Nauk Gruz SSR. 52: 799-804.
- CHOI S.H., LEE K.G., CHOI Y.S., LEE E.I, KIM Y.T. (1988) Pathogenicity and bacteriological characterisation of *Xanthomonas campestris* from mulberry. Korean J. Plant Pathol. 4(2): 143-148.
- COTEANCE O. (1971) Diseases of mulberry, their prevention and control. Sericultura. 7: 22-29.
- DOWSON W.J. (1957) Plant diseases due to bacteria. 2nd Ed. Syndicis of Cambridge Uni. Press, Cambridge. pp. 225.
- GANGWAR S.K., THANGAVELU K. (1991) Occurrence of mulberry diseases in Tamilnadu. Indian Phytopath 44(4): 545-549.
- GANGA G., CHETTY S.J.. (1991) An introduction to sericulture. Oxford & IBH Publishing co. Pvt. Ltd. New Delhi. pp. 160.
- GUNASEKHAR V., TOMY PHILIP, GOVINDAIAH , SHARMA D.D., NAGARAJ B., DATTA R.K. (1994) Seasonal occurrence of foliar fungal and bacterial diseases of mulberry in South India. Indian Phytopath. 47(1): 72-76.
- GVINEPADZE M.S.H., KHURTSIYA B.N., SHUTASISHVILI N.A., TUKHARELI A.R. (1978) Comparative toxicity of new fungicides with respect to causal agent of bacteriosis of mulberry *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens. Soobsch. Akad. nauk. Gurzi. SSR. 92(3): 713-716.

- IYENGAR M.N.S. (1975) Effect of feeding mulberry leaves sprayed with morestan on the survival and growth of silkworm *Bombyx mori* L. Indian J. Seric. 14: 1-5.
- KRISHNA PRASAD K.S., SIDDARAMAIAH A.L (1978) Studies on the bacterial leaf blight of mulberry in Karnataka. Indian J. Seric. 17: 61-63.
- KUIBOMILA Y., NAKAYAMA K. (1975) On the overwintering of causal pathogen of a bacterial blight of mulberry *P. mori* (Boyer et Lambert) Stevens in dead leaves of the mulberry. J. Seric. Sci. Jpn. 44(4): 287-293.
- MAJI M.D., QADRI S.M.H, PAL S.C. (1996a) Bacterial leaf spot diseases in mulberry. Indian Silk 35 (6 & 7):11-12.
- MAJI M.D., QADRI S.M.H. , PAL S.C. (1996b) *Xanthomonas campestris* pv. *mori* a new bacterial pathogen of mulberry. Sericologia (in press).
- MATHEW H., BEENA S., CHERIAN A.K. (1994) Bacterial wilt of mulberry *Morus alba* L. incited by *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith from India. Kerala Agric. Univ. Bacterial Wilt, News letter: 9-11.
- NOAMANI M.K.R., MUKHERJEE P.K., KRISHNASWAMI S. (1970) Studies on the effect of feeding multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L) larvae with mildew effected leaves. Indian J. Seric. 9: 49-52.
- PANDEY P.C., SINGH S. (1989) Three important diseases of mulberry in India. Indian J. Forestry 12(4):255-258.
- PATHAN I.H. (1987) Research and survey reports. Pakistan Quaterly News letter, Asia and Pacific Plant Protection Commission, FAO, Thailand, 30: 33-34.
- RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.H., KASHIVISWANATHAN K., SASTRY C.R., JOLLY M.S. (1978) Sericulture Manual I. Mulberry Cultivation. FAO Agric. Bull. Rome pp 69.
- SANDS D.C., SCHROTH M.N., HILDEBRAND D.C. (1980) *Pseudomonas*: In Schaad (Editor), Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society, St. Paul. Minn: pp. 36-44.
- SASTRY C.R. (1984) Mulberry varieties - Exploitation an pathology. Sericologia. 24: 333-359.
- SATO M., TAKAHASHI K. (1972) Ecological studies on the bacterial blight of mulberry 1. Over-wintering of pathogen *Pseudomonas mori* (Bayer et Lambert) Stevens. J. Seric. Sci. Jpn. 41 (4): 285-295.
- SATO M., TAKAHASHI K. (1973a) Ecological studies on the bacterial blight of mulberry 2. Seasonal differences of the population *Pseudomonas mori* phage in the soil of mulberry field. J. Seric. Sci. Jpn. 42(3): 207-212.
- SATO M., TAKAHASHI K. (1973b) Ecological studies on the bacterial blight of mulberry 3. Some factors concerning with the survival of *Pseudomonas mori* (Bayer et Lambert) Steven. in soil. J. Seric. Sci. Jpn 42(3): 213-218.
- SATO M., TAKAHASHI K., UEMATSU , T., OHATA K. (1981) Selective media for isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *mori* the pathogen of bacterial blight of mulberry J. Seric. Sci. Jpn. 50(5): 409-414.
- SATO M., TAKAHASHI K. (1983) The distribution of *Pseudomonas syringae* pv. *mori* the causal agent of bacterial blight of mulberry in mulberry fields in winter. J. Seric. Sci. Jpn, 52(1): 61-65.
- SENGUPTA K., PRADIP KUMAR, BAIG M., GOVINDAIAH (1990) Hand Book on Pest and Disease control of mulberry and silkworm. United nations, ESCAP, Bangkok, Thailand pp 88.
- SHARMA D.D., GOVINDAIAH (1991) Comparative *in vitro* toxicity of fungicides against *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens causing bacterial blight of mulberry. Indian J. Seric. 139-140.
- SHARMA D.D., GOVINDAIAH, DAS P.K., TOMY PHILIP, CHOUDHURY P.C., DATTA R.K. (1994) Influence of bacterial bio fertilizers under graded levels of nitrogen on the incidence of major mulberry diseases. Indian J. Seric. 33(1): 31-35.
- SHREE M.P., SANTAKUMARI (1986) Mulberry diseases and their control: In Lectures on Sericulture. Suramya Publisher, Bangalore. pp 243.
- SHREE M.P., BORAI AH G. (1988) Incidence of tukra and bacterial blight of mulberry plant in germplasm bank. Curr. Sci. 57: 1224-1228.

- SIDDARAMAIAH A.L., HEDGE R.K. (1988) Effect of feeding *Cercospora* infected leaves of mulberry on silkworm development. Mysore J. Agric. Sci. 22:498-504.
- SIKDAR A.K., SAMSON M.V., MADHAVA RAO Y.R., BAIG M., NAGARAJU B. (1979) Effect of feeding leaf spot affected and systemic fungicide sprayed leaves of mulberry *Morus indica* L. on silkworm *Bombyx mori* L. Ind. J. Seric. 18: 73-77.
- SIKDAR A.K., KRISHNASWAMI S. (1980) Assessment of leaf yield loss of two mulberry varieties due to leaf spot. Indian J. Seric. 19: 9-12.
- SIDDARAMAIAH A. L., HEDGE R.K. (1988) Effect of feeding of *Cercospora* infected leaves of mulberry on silkworm development. Mysore J. Agric. Sci. 22: 498-504.
- SINHA S.K., SAXENA S.F. (1966) First record of bacterial blight of mulberry in India caused by *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens. Indian Phytopath. 19: 318-319.
- SULLIA S., PADMA S.D., (1987) Acceptance of mildew affected mulberry leaves by silkworm (*Bombyx mori* L.) and its effect on cocoon characteristics. Sericologia. 27: 693-696.
- SUNDARESWARAN P., GOVINDAIAH, SRINIVASAN E., JOLLY M.S. (1988) Effect of leaf rust disease on the nutritive composition of mulberry (*Morus alba* L). Indian J. Seric. 27(2): 159-160.
- TAKAHASHI K., SATTO M. (1977) A new strain of *Pseudomonas mori* causing halo blight of mulberry. Ann. Phytopathol. Soc. Japan. 43(5): 593-597.
- TAKAHASHI K., SATTO M. (1978) The shoot soft rot of mulberry caused by *Erwinia carotovora* var. *carotovora*. J. Seric. Sci. Japan. 47(2): 143-153.
- TAKAHASHI K., SATTO M. (1978) The causal pathogen of bacterial blight of mulberry and its control. JARQ, 14: 41-45.
- TEOTIA R.S., MANDAL S.K. (1993) Bacterial leaf blight disease of mulberry. Indian silk 32(6): 41-44.
- TEOTIA R.S., SEN S.K. (1994) Mulberry diseases in India and their control. Sericologia 34(1): 1-18.
- TURKOGLU K., OKTEM Y.E. (1973) Studies on the symptomatology and biochemical characteristics of bacterial mulberry blight caused by *Pseudomonas mori* (Bayer et Lambert) Stevens. Bitki koruma bul 13(1): 19-29.
- UMESH KUMAR N.N. (1991) Physiological studies of mulberry varieties infected by foliar pathogens. Ph. D. Thesis. Bangalore Univ. 110-111.
- UMESH KUMAR N. N., SHARMA D.D., SHREE M.P. (1993) Effect of feeding fungus infected mulberry leaves on the commercial characters of silkworm (*Bombyx mori* L.) Indian J. Seric. 32(1): 107-109.
- YAGITA H. (1977) Detection of *Erwinia carotovora* from the dead parts of shoot tip of mulberry in Saitama prefecture. J. Seric. Sci. Jpn, 46(3): 251-252.
- YASHIHIKO A. (1995) Disease and pest control pp 59. In: Sericulture in tropics. AICAF, Tokyo. Japan.
- YOKOYAMA T. (1962) Synthesised Science of Sericulture. CSB, Bangalore pp. 298.
- YOUNG J. M., DYE D. W., BRADBURY J.F., PANAGOPOULOS C.G., ROBBS C.F. (1978) A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. N.Z.J. Agric. Res. 21: 153-177.
- ZING Z.T., FANG T. Y., SHANHUAN Z., XIAN G.H., HUAIZHONG F., BEN M. (1988) Mulberry cultivation, FAO Agricul. Service Bull. 73/1, Rome.

MALADIES BACTERIENNES DU MURIER (*MORUS SPP*)

M. D. MAJI & S. M. H. QADRI*

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore - 742 101, W. B., Inde.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus spp*) est une plante vivace qui s'adapte bien à une grande variété de sols et de conditions climatiques. Selon les conditions agroclimatiques, le type de sol, l'altitude et d'autres facteurs, il est cultivé en tant qu'arbre, arbuste ou buisson pour la production commerciale des feuilles, qui est l'unique nourriture du ver à soie (*Bombyx mori* L.). Les protéines de la feuille de mûrier sont utilisées par le ver à soie pour la bio-synthèse de la soie. Près de 70 % de la production de protéines de soie proviennent directement des protéines des feuilles de mûrier. C'est pourquoi la qualité et la quantité de la production de cocons de vers à soie est directement influencée par la qualité de la feuille de mûrier.

Le mûrier est affecté par un grand nombre de maladies, elles-mêmes causées par nombre de champignons, de bactéries, de mycoplasmes, de virus, de nématodes et aussi par des maladies non-parasitaires dues à des désordres physiologiques (Yokoyama, 1962 ; Rangaswami et coll., 1978 ; Sastry, 1984 ; Shree et Santa Kumari, 1986 ; Sengupta et coll., 1990 ; Ganga et Chetty, 1991 ; Yoshihiko, 1995). Quelle que soit la nature des agents responsables, les maladies interfèrent avec la physiologie de l'hôte, ce qui détériore considérablement la plante. Chez le mûrier, la baisse de production (Sikdar & Krishnaswami, 1980) et la réduction de la valeur nutritive des feuilles de mûrier i. e. protéines, acides aminés et sucres, changements de contenu en humidité, en chlorophylle, en carotène, en polyphénol etc. ont été décrites (Chanturiya, 1968 ; Sundareswaran et coll., 1988 ; Umesh Kumar, 1991). Nourrir les animaux avec des feuilles malades prolonge la durée de la période larvaire, réduit le rendement en cocons ainsi que la qualité de la soie (Noamani et coll., 1970 ; Iyengar, 1975 ; Sikdar et coll., 1979 ; Sullia et Padma, 1987 ; Siddaramaiah et Hedge, 1988 ; Umesh Kumar et coll., 1993).

Les bactéries phytopathogènes qui entraînent les maladies du mûrier, appartiennent à trois genres, à savoir : *Pseudomonas*, *Xanthomonas* et *Erwinia*. Les maladies causées par ces germes pathogènes sont regroupées en maladies de la rouille, des taches des feuilles, de la flétrissure et du pourrissement. Chez le mûrier, les maladies bactériennes n'ont pas reçu suffisamment d'attention ; ainsi il existe une quantité d'informations qui n'ont pas été révisées, comme on peut le constater dans les travaux de Yokoyama, 1962 ; Rangawami et coll., 1978 ; Shree et Santa Kumari, 1986 ; Ganga et Chetty, 1991 ; Teotia et Sen, 1994 ; Biswas et Sengupta, 1994. C'est pour cette raison que le but de notre étude actuelle est de mettre à jour les informations disponibles sur les maladies bactériennes du mûrier.

LES MALADIES DE LA ROUILLE

Les maladies de la rouille du mûrier sont causées par *Pseudomonas syringae* pv. *mori* Boyer & Lambert (Young et coll., 1978). *Bacterium mori* Boyer et Lambert, *Bacillus cubonianus* Macchati,

* Zonal Silkworm Seed Project Office, Lucknow - 226019, U.P., Inde.

Bacterium cuboniamum Ferraris, *Pseudomonas mori* Boyer et Lambert Steven sont des synonymes de *Pseudomonas syringae* Pv. *mori* Boyer et Lambert (Young et coll., 1978). *Xanthomonas campestris* pv. *mori* a également été rapporté comme étant la cause de la rouille chez le mûrier du Bengale Ouest (Maji et coll., 1996b). Si l'on considère les symptômes, ils peuvent cependant être classés dans les deux catégories suivantes :

- i. La rouille de la pousse / tige
- ii. La rouille de la feuille

1. La rouille de la pousse / tige du mûrier :

La rouille du mûrier a été observée pour la première fois aux Etats Unis en 1910 par Smith. La maladie fut ensuite signalée par Doidge (1915) en Afrique du Sud, par Dowson (1932) en Australie, par Wormald (1939) en Angleterre, par Sato et Takahashi (1972) au Japon, par Novak et Lauzova (1983) en Tchécoslovaquie, par Zhu et coll., (1985) en Chine et par Akhtar et Sarwar (1988) au Pakistan. Le symptôme le plus remarqué se manifeste par un dépérissement des branches et un retard de croissance des jeunes arbres. L'attaque se porte sur les bourgeons en phase de développement et se manifeste par une surface noircie importante. Des taches de forme irrégulière, allant du brun au noir et entourées par un halo jaune se développent sur la lamina et sur les nervures et les feuilles s'enroulent et se tordent. Des lésions étirées et déchiquetées apparaissent sur les jeunes pousses qui finissent souvent par mourir. Les bactéries suintent des lésions par temps humide (Dowson 1957).

2. La rouille bactérienne de la feuille

La rouille bactérienne de la feuille de mûrier a été identifiée pour la première fois en Uttar Pradesh, en Inde (Sinha et Saxena, 1966). La maladie fut ensuite signalée dans d'autres états indiens tels que le Karnataka (Krishna Prasad et Siddaramaiah), le Tamilnadu (Gangwar et Thangavelu, 1991), le Bengale ouest (Anonyme, 1991-92, Teotia et Mandal, 1993), l'Andhra Pradesh, le Karnataka et le Kerala (Gunasekhar et coll., 1994).

Après le début de la mousson, de petites taches remplies d'eau apparaissent tout d'abord sur la surface inférieure, qui se développeront plus tard également sur la surface supérieure. Ces taches deviennent brunes entourées d'une bordure jaune. Les feuilles plus jeunes deviennent dentelées, déformées, se courbent vers l'extérieur et tombent prématurément. L'infection des nervures est également courante. Sur la tige, les symptômes se manifestent par des lésions sombres, irrégulières et détrempées qui se rejoindront au cours des stades avancés de la maladie.

Un autre type de flétrissure de la feuille se caractérise par la présence d'une bordure jaune autour de la partie atteinte, que l'on appelle rouille en halo et un trou se forme après la chute des tissus nécrosés. Cette flétrissure est causée par une nouvelle souche de *Pseudomonas syringae* pv. *mori*, signalée par la préfecture de Shiman au Japon (Takahashi et Sato, 1977). En outre, la chlorose des jeunes pousses a également été notée.

Sato et coll., (1981) développèrent les milieux sélectifs PM-1 et PM-2 afin d'isoler *P. syringae* pv. *mori* du sol. Les milieux contiennent du saccharose (PM-1) ou du sorbitol (PM-2) comme source de carbone, mais aussi du rouge de phénol, de la phénéthiicilline violet de méthyl, du potassium, de l'ampicilline, du bromure de cetyl-triméthylammonium et du chlorure de cadmium comme agents sélectifs.

P. syringae pv. *mori* est bacilliforme, mesurant de 1,8 à 4,5µm de longueur par 0,9 à 1,3µm de largeur. L'agent pathogène est mobile, gramnégatif et produit un pigment vert fluorescent dans le milieu de King B. Les colonies sur agar agar sont blanches, avec une surface lisse et plate et une bordure entière qui petit à petit devient ondulée et qui se développe lentement. La bactérie liquéfie la gélatine, rend le lait de litmus alcalin et transparent. Elle n'est pas capable de produire des nitrites à partir de nitrates. La production d'indole dans le milieu est faible ou fait défaut. Le sulfure d'hydrogène n'est pas produit. La bactérie produit de l'acide à partir des hydrates de carbone sans formation de gaz. Le développement de la bactérie n'est pas possible dans un bouillon de culture dosé à 4 % de

chlorure de sodium. Turkoglu et Oktem (1973) rapportèrent que les tests du métabolisme oxydatif du glucose, de production d'ammoniaque et d'hydrolyse de Tween 80 sont positifs, alors que les tests de présence d'oxydase, de production d'indole, d'hydrolyse de l'amidon, de rouge de méthyle et d'hydrolyse de la caséine sont négatifs chez la bactérie. Sands et coll., (1980) nous apprennent que *P. syringae* pv. *mori* utilise du D-xylose, du D-gluconate, de l'acétate, de la tri-acétine, de la tripropianine, du glutarate, du L-malate, du tri-capronine, du L-tartrate, du D-tartrate, du méso-tartrate, du DL-bétaglycérylphosphate, du DL-glycérate, du L-ascorbate, de l'iso-ascorbate, de l'alpha-céto glutarate, de la L-histidine, de la L-tyrosine, de la bétaine, du sorbitol, du quinate et de la DL asparagine. Il a été signalé que la croissance sur un milieu contenant du mannitol, de l'inositol et de la trigonelline était positive alors qu'elle était négative sur un milieu contenant de la bétaine, du quinate, du L-tartrate, du D-tartrate, du L-lactate et de l'hémosyrine.

Dowson (1957) suggéra de tailler les jeunes arbres en automne puis de les pulvériser de bouillie bordelaise comme mesure préventive contre la maladie de la flétrissure du mûrier. Chanturia et Labakhua (1963) remarquèrent qu'une pulvérisation de phytothérapie à 0,05-0,1 % contenant 1 % de glycérine était plus efficace que la bouillie bordelaise. En outre, le produit stimulait la croissance des arbres et augmentait leur résistance. In vitro, le sulfate de streptomycine, la streptocycline et la streptopénicilline se sont montrés efficaces pour l'inhibition de la bactérie même à 5 pour 100 ppm (Krishna Prasad et Diddaramaiah, 1978). Gvinepadaze et coll., (1978) rapportèrent que le bénomyl, le dithane et le dithan M45 étaient particulièrement efficaces contre le germe pathogène.

De même, d'autres formulations telles que le Foltaf et le Captaf sont également efficaces in vitro (Sharma et Govindaiah, 1991). En ce qui concerne le rôle de la nutrition en azote, dans la lutte contre la maladie, il a été observé que des engrais biologiques à l'Azotobacter et à l'Azospirillum diminuaient la flétrissure bactérienne de plus de 60 % (Sharma et coll., 1994).

En ce qui concerne la résistance de l'hôte à la maladie, les espèces telles que Bulgarian-3, Bulgarian-24, Thileseuri et Galicène de Roumanie montrèrent des signes de résistance à la flétrissure bactérienne (Coteance, 1971). Au Pakistan, les cultivars de *M. indica* et *M. alba*, le husung, le china, le shine ichinose, le Gumji et l'ichihie sont aussi rapportés pour être résistants à cette maladie, aussi bien dans des conditions de laboratoire qu'en plein champ (Pathan, 1987 ; Akhtar et Sarwar, 1988). Au Japon, les variétés de mûrier Shimanouchi et Kenmochi appartenant à l'espèce *M. bombycis* sont connues pour être particulièrement résistantes à cette maladie (Anonyme, 1978). Parallèlement, Shinichinose, Minamisakari et Roguwa sont également connues pour être très résistantes à la flétrissure bactérienne (Takahashi, 1980). Sous le climat indien, Shree et Boraiah (1988), rapportèrent que 20 espèces locales de mûrier, à savoir le berhampore, le berhampore local, la channapatna local, la série de coonor C-6, C-10, C-11, C-14, C-15, C-18, le CRR hakkikal, le jakkur local, le Kajali, le Kanva-2, le MR2, le Mysore local, le S-36, le S-41, le S-54 et le Yennerganganakaddi Farmer's field étaient sujettes à la flétrissure bactérienne, alors que des espèces exotiques comme le Goshorami, l'haraban, l'italian, le Kairyonezumigaeshi, le kosen, le kurangi, le *Morus australis*, le *M. cathayana*, le *M. lembang*, le *M. multicaulis*, l'okinawa 2, le philippine, le popua, le tai-song-2 et 3 ainsi que le tsukasaguwa étaient totalement exemptes de la flétrissure bactérienne, en plein champ ; par contre, les variétés Thailand, *M. alba*, *M. macroura*, *M. nigra* et Vietnam y sont particulièrement sensibles. Sato et Takahashi (1973 a) rapportèrent que la population bactérienne diminuait en été, augmentait en automne et se maintenait à un niveau stable en hiver. La population bactérienne diminuait plus rapidement dans un sol non stérilisé que dans un sol stérilisé. En ce qui concerne sa longévité, la bactérie est capable de survivre pendant plus de 100 jours dans des feuilles mortes et plus de 150 jours dans des racines de mûrier (Sato et Takahashi, 1973 b). En plein champ, la bactérie hiverne dans les feuilles mortes du mûrier (Sato et Takahashi, 1972). La population de bactéries est plus importante avant l'hiver et diminue progressivement avec le temps. La capacité de survie de la bactérie dans les feuilles mortes du mûrier est également affectée par les conditions climatiques. Les basses

températures et le climat sec prolongent sa capacité de survie, tandis que l'humidité et les températures élevées la diminuent (Kuibomila et Nakayama, 1975).

Sato et Takahashi (1983) observèrent la présence des populations bactériennes dans des pousses vivantes et malades et dans des feuilles mortes à un taux d'environ 10^7 /g et de 10^5 /g respectivement, ce qui est beaucoup plus que celui se trouvant dans le sol, à savoir 10^1 /g. Les bactéries sont également présentes, à un taux faible, dans les bourgeons hivernaux des pousses saines.

LA TACHE BACTERIENNE DE LA FEUILLE

La tache bactérienne de la feuille chez le mûrier est causée par *Xanthomonas campestris* pv. *mori* Pammel (Dowson, Maji et coll., 1996). La maladie a été observée pour la première fois en Corée par Choi et coll., (1988). Pandey et Singh (1989) observèrent la maladie à Dehradun, Uttar Pradesh (Inde). Maji et coll., (1996b) signalèrent la maladie au Bengale ouest (Inde) et identifièrent les organismes responsables, à savoir un nouveau pathovar de *Xanthomonas campestris*, X.c. pv. *mori* Pammel (Dowson, Maji et coll., 1996).

Le symptôme de cette maladie se manifeste par de nombreuses taches remplies d'eau qui apparaissent initialement sur la surface inférieure de la feuille peu après le début de la mousson. Elles se développeront plus tard sur la surface supérieure. Peu à peu, elles deviennent marron, à moitié translucides et durant le dernier stade, les taches deviennent presque noires et un halo jaune se forme autour de la tache. Le tissu nécrosé à l'intérieur de la tache tombe, laissant à sa place des trous minuscules. La chute prématurée des feuilles, à un stade avancé de la maladie est également un symptôme courant (Pandey et Singh, 1989 ; Maji et coll., 1996).

La bactérie est bacilliforme, mobile et gramnégative. Les colonies sur agar sont petites, de forme circulaire, convexes, lentes et deviennent jaunes au cours de leur croissance. Les bactéries produisent de l'acide à partir des hydrates de carbone, mais n'émettent pas de gaz ; elles sont capables d'hydrolyser l'amidon, la caséine, la gélatine et sont catalase positives (Maji et coll., 1996b).

L'agrimycine à une concentration de 100 ppm est efficace contre la maladie (Pandey et Singh, 1989). Maji et coll., (1996a) rapportèrent que le sulfate de streptomycine, l'oxychlorure de tétracycline, l'oxytétracycline, la pushamycine, la plantomycine, l'estamycine, la centamycine et le fongicide oxychlorure de cuivre étaient relativement efficaces contre le germe pathogène.

Les variétés de mûrier telles que S146, Punjab locale et Philipines sont connues pour être résistantes à la maladie, alors que Kanva-2, Mandalay et Chinoise sont modérément résistantes et que C-776 est sensible à la maladie (Pandey et Sing, 1989). Maji et coll., (1996a) rapportèrent que les cultivars tels que Kajli, S-1, C-776, K-2 présentaient une incidence supérieure à la maladie par rapport à S-1635.

LE FLÉTRISSEMENT BACTERIEN DU MURIER

Le flétrissement bactérien du mûrier est causé par *Pseudomonas solanacearum* Smith. La maladie est une menace importante pour l'industrie séricicole de la Chine (Zing et coll., 1988). Mathew et coll., (1994) signalèrent la présence de la maladie au Kérala mais pour l'instant, elle n'a pas eu d'influence sur le plan économique en Inde.

La maladie s'attaque aux vieilles racines coupées, aux fanes taillées ainsi qu'aux jeunes arbres et aux plantules. Le symptôme le plus visible de la maladie se manifeste par une flétrissure des plants infectés. Les plants flétris maintiennent cependant une couleur verte. Au tout premier stade de l'infection, des bandes marron apparaissent dans le xylème, mais à un stade plus avancé, la tige et les branches se rabougrissent. La partie des racines sévèrement atteinte devient noire. L'écorce des racines pourrit et tombe. Un exsudat blanc et visqueux apparaît souvent au niveau de la portion coupée de la racine infectée.

La bactérie est bacilliforme, d'environ 0,8 à 1,9 µm en longueur, gramnégative, mobile, avec de 1 à 3 flagelles polaires à chaque extrémité. La colonie est ronde, lisse, brillante, d'une couleur gris-blanc qui tournera plus tard au brun clair. La température optimale oscille entre 28 et 36° C et le pH se situe entre 7 et 8. Le seuil de mortalité se situe à 53° C pendant 10 minutes.

Le germe pathogène vit dans le sol et survit dans la terre pendant plusieurs années. Le mûrier malade et d'autres plantes vont lui servir de source comme premier inoculum.

Des facteurs tels qu'une température et une humidité plus élevées ainsi que des conditions gorgées d'eau favorisent la croissance du germe pathogène et prédisposent le plant hôte à la maladie.

La maladie peut être contrôlée par des mesures de mise en quarantaine stricte parallèlement à des mesures préventives comme la propagation de jeunes plants sains, la suppression et la destruction des plants infectés et l'application de désinfectants tels qu'une solution de formaldéhyde à 1 : 1000 ou une poudre de chlorure à 0,2 % sur les taches infectées. La rotation des cultures avec des plantes non solanacées a aussi des effets bénéfiques.

LE POURRISEMENT DES TIGES

La maladie est causée par *Erwinia carotovora* var. *carotovora* James Dye. La maladie a été signalée tout d'abord au Japon (Takahashi et Sato, 1978). L'association de l'organisme avec des parties de tiges mortes de mûrier est également rapportée par Yagita (1977).

Les symptômes caractéristiques de la maladie consistent en un pourrissement et une absence de germination au début du printemps des tiges qui ont hivernées, ainsi qu'un pourrissement des jeunes pousses au milieu ou à la fin du printemps. Dans le cas d'une attaque particulièrement sévère de la maladie, les pousses de mûrier exudent de la sève à partir des portions atteintes des souches (Takahashi et Sato, 1978).

Les bactéries sont bacilliformes, gramnégatives, mobiles, facultativement anaérobiques, de catalase positives, oxydase négative et produisent de l'acide à partir d'hydrates de carbone.

CONCLUSION

Il est clair que, d'après ce texte, peu d'attention a été portée aux maladies du mûrier et qu'elles ont été considérées insignifiantes ou ayant peu d'importance. Certaines des maladies bactériennes sont maintenant considérées très importantes et sont devenues des facteurs limitants pour la culture du mûrier et la production des feuilles.

Les symptômes de la maladie produits par la rouille bactérienne du mûrier ainsi décrits par Krishna, Prasad et Siddaramaiah (1978), Teotia et Mandal (1993) sont similaires. Récemment, Maji et coll., (1996) nous ont informé que la rouille et la tache bactériennes de la feuille dans le Bengale ouest sont causées par *Xanthomonas campestris* pv. *mori* au lieu de *Pseudomonas mori*. En outre, les symptômes de la maladie produits par *P. mori*, ainsi que l'a observé Dowson (1957), sont relativement différents. Tout ceci nécessite des recherches urgentes et systématiques sur le germe pathogène à l'origine de la maladie de la rouille bactérienne.

Jusqu'à alors, les seuls produits chimiques recommandés commercialement à des fins de contrôle des maladies bactériennes sont des antibiotiques comme la streptomycine et la tétracycline. Leur utilisation devrait être proscrite puisque ceux-ci sont utilisés en chimiothérapie humaine et animale. En outre, l'utilisation indiscriminée des antibiotiques peut mener au développement de bactéries phytopathogènes résistantes.

De nos jours, le contrôle biologique des maladies bactériennes est un domaine potentiel. Il est urgent que davantage de recherches soient effectuées afin de développer des mesures de contrôle sans danger pour l'équilibre écologique.

COMPARISON OF THE VARIATION IN COCOON QUALITY AMONG THE SINGLE, THREE-WAY AND DOUBLE CROSS HYBRIDS IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

K.-W. SOHN* & L. RAMIREZ

Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS) A.A. 733, Pereira, Risaralda, Colombia.

*In order to compare the variation in cocoon quality between three crossing types of **Bombyx mori**, single, three-way and double cross hybrids obtained from four parental lines of the actual commercial variety in Colombia were evaluated with two rearing tests in 1998. The average performance of double cross hybrids was better than that of single cross hybrids in the economic characters such as the reelable cocoon yield, the weight of cocoon and its shell in the first rearing, while little significant difference was observed between the crossing types in the second rearing. Comparing the coefficient of variation for the weight of cocoon and cocoon shell during the first rearing, the single cross hybrids manifested a higher variation than the three-way and double cross, which is contrary to the general expectation, while no significant difference was observed in the percentage of cocoon shell among three crossing types. In the second rearing little significant difference appeared among the crossing types in the cocoon quality like the cocoon weight as well as the percentage and the weight of the cocoon shell. In conclusion, it is not reasonable to deduce that the three-way and double cross hybrids have higher variation than the single cross in the economic characters of silkworm cocoons, but it is necessary to evaluate the variation of cocoon quality for each hybrid that is produced between particular lines.*

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, hybrid, double cross, cocoon quality.

INTRODUCTION

Heterosis or the hybrid vigour is the phenomenon in which the cross of two different varieties or lines produces a hybrid that is superior in growth, size, yield or general vigour (Falconer, 1981). Since the 1920s, the F1 hybrids were widely utilised for commercial cocoon production, after the discovery of heterosis in various economic characters of the silkworm by Toyama (1906), which enabled the remarkable progress in sericulture. When the hybrid vigour was calculated based on the mid-parent value, the cocoon yield and the filament weight revealed 37.1% and 22.5% of hybrid effects (Harada, 1961).

The present commercial varieties of the silkworm are produced by the single cross, three-way cross or double cross. As a result of silkworm breeders' efforts, the recent varieties have a high percentage of cocoon shell and raw silk, that is negatively correlated with egg productivity of parental lines. To improve the egg productivity, double crossed hybrids have been widely utilised for the commercial egg production (Gamo, 1976; Hirata, 1985).

The results on the comparison of economic characters between the single cross and double cross hybrids differ according to the researchers, the materials utilised and the conditions provided. No

* To whom correspondence should be addressed. Fax.: 57-63-299915 e-mail: cdts@pereira.multi.net.co

difference has been found between the single and three-way crosses in the healthiness, such as pupation percentage and mortality, but in the case of poor rearing conditions, there exists some differences of heterosis between three-way and single crosses (Tazima, 1956). It was reported that the single cross hybrids revealed less variation than the three-way cross or double cross in the larval weight and cocoon quality (Watanabe, 1961). The three-way cross and double cross hybrids showed higher variation than the single cross hybrid in the weight and the uniformity of cocoons including the size deviation of cocoon filament (Watanabe, 1959). There is another report saying that no difference was observed in larval duration among crossing types, while three-way and double crosses were more favourable than the single cross considering the pupation rate and the weight of cocoon and cocoon shell (Morohoshi *et al.*, 1957).

It was confirmed by Hirata (1985) that the type of double cross $(J_1.C_1) \times (J_2.C_2)$ was inferior to the type of $(J_1.J_2) \times (C_1.C_2)$, where J and C represent Japanese and Chinese race, with more variation in cocoon weight, longer larval duration, lower larval weight, higher mortality, lower weight of cocoon and cocoon shell and shorter and thinner filament with more defects of raw silk.

According to Yokoyama (1973), the normal type of double cross $(J_1.J_2) \times (C_1.C_2)$, produced 30% more hybrid silkworm eggs per the same amount of parental cocoon than the single cross, and no difference was detected between the two types of crosses in the other economic characters, such as cocoon yield and cocoon quality. Therefore, the double crossed hybrids have been more popular for the production of commercial eggs.

The performances of the three-way and the double crosses can be reliably predicted from the results of the constituent single crosses. One of these methods is Jenkin's method (1934), in which the performance of the double cross hybrid $(A.B) \times (C.D)$ can be estimated as the mean yield of the four non-parental single crosses, such as $A \times C$, $A \times D$, $B \times C$ and $B \times D$, where A, B, C and D designate four different lines. Using this method, Minagawa & Otsuka (1975) found that the correlation between the actual performance of double cross hybrids and the mean value of four single crosses was high for the traits highly heritable such as the percentage of cocoon shell and raw silk, the length and the size of cocoon filament, while it was low for others such as pupation rate, cocoon yield and reelability of cocoons.

The present commercial hybrid in Colombia « Pilamo 1 » is a double cross hybrid between two lines of the Japanese race ($K05 \times K30$) and two lines of the Chinese race ($CLS \times CHS$). The major reason for commercialising the double cross hybrid in Colombia was that it was more favourable and efficient to produce hybrid eggs with double cross in the tropical conditions. It was considered valuable to develop a research on the comparison of the quality and variation of cocoons between single, three and double cross hybrids utilising those pure lines that make the actual hybrid in order to know which type of cross is more favourable in the commercial production of cocoon under tropical conditions.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was conducted in the experimental farm of the Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS), situated in Pereira, Colombia with an altitude of 1,070 meters above sea level and with 1,930 mm of average precipitation in a year.

The present commercial hybrid in Colombia is « Pilamo 1 », which is a double cross produced by hybridisation between two Japanese lines $K05 \times K30$ and two Chinese lines $CHS \times CLS$. To compare the effects of three crossing types on the quality of cocoons, 4 single crosses, 4 three-way crosses and 2 double crosses hybrids were investigated as follows:

Single crosses: $K05 \times CHS$ ($5 \times H$), $K05 \times CLS$ ($5 \times L$), $K30 \times CHS$ ($30 \times H$) and $K30 \times CLS$ ($30 \times L$)

Three-way crosses: $K05 \times (CLS \times CHS)$ ($5 \times LH$), $K30 \times (CLS \times CHS)$ ($30 \times LH$), $(K05 \times K30) \times CHS$ ($530 \times H$), and $(K05 \times K30) \times CLS$ ($530 \times L$)

Double crosses: (K05 × K30) × (CLS × CHS) (530 × LH) and (CLS × CHS) × (K05 × K30) (LH × 530)

In order to evaluate the 10 hybrids from the three crossing types, each hybrid had two replications of 300 silkworms and a completely randomised design was applied to obtain impartial data. The same experimental design was repeated for a different rearing season in 1998, and the detailed dates of two rearings are presented in Table 1.

Table 1. Calendar of two silkworm rearing for the experiment.

Tableau 1. Calendrier des deux élevages de vers à soie pour l'expérience.

Rearing	Incubation of eggs	Date of hatching	Cocooning	Cocoon harvest
<i>Elevage</i>	<i>Incubation des oeufs</i>	<i>Date d'éclosion</i>	<i>Coconage</i>	<i>Récolte de cocons</i>
No. 1	23.04 - 03.05.1998	04.05.98	26.05.98	2-3. 06 .98
No. 2	05 - 18 .08. 98	19.08.98	12.09.98	18-19. Sept.. 98

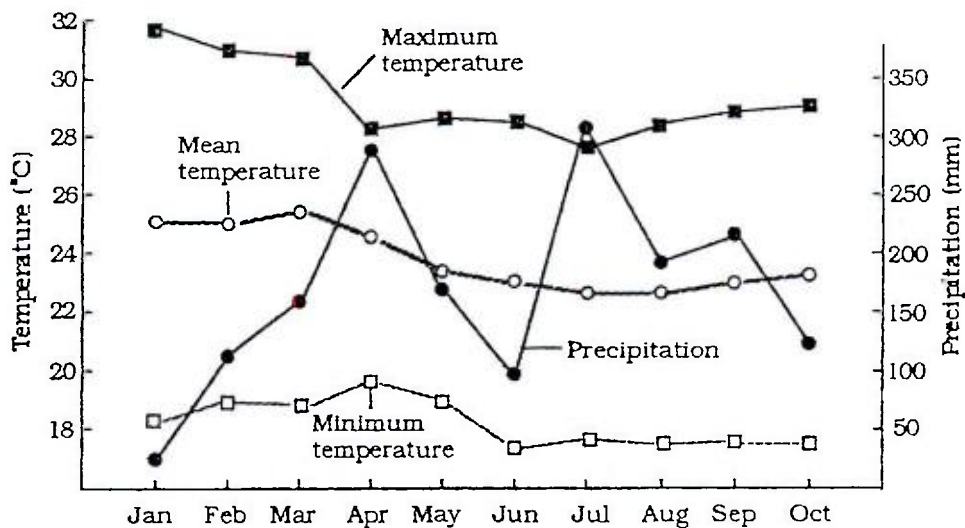


Fig. 1. Exterior temperature and precipitation during the experiment.

Fig. 1. Température extérieure et précipitations pendant l'expérience.

All the silkworm eggs for the two rearings were produced during February of 1998 and the eggs utilised for the first rearing were treated with chloride acid after refrigeration at 5° C for two months, while the eggs incubated for the second rearing were hibernated artificially at 2.5-5° C during 5 months.

Between 24 to 48 hours after the third moulting, 300 silkworms were put separately for each replication in rearing trays of 1.0 × 0.7 m and the same treatment was provided for all the rearing. During the cocooning stage the dead silkworms were counted to calculate the percentage of pupation.

The temperature and the precipitation are very important factors for the growth of mulberry and silkworm rearing. The maximum and minimum temperature and the precipitation during the experiment, observed in the meteorological station of the experimental farm of CDTs are presented in Figure 1. It was observed that the temperature during the silkworm rearing was adequate with a sufficient precipitation in the anterior month of each rearing, which enabled us to obtain an excellent quality of mulberry leaves.

The exterior temperature and the precipitation affected the interior temperature and the relative humidity in the rearing room, which are shown in Table II. During the first rearing the maximum temperature reached 29.0° C with an average of 26.0° C, that is considered a little high for the silkworm rearing, while the temperature during the second rearing was more suitable for the silkworms with an average of 25° C.

Table II. Temperature and relative humidity in the rearing room.

Tableau II. Température et humidité relative dans la pièce d'élevage.

Rearing	Maximum temp.	Minimum temp	Average temp	Humidity (%)	Period
<i>Elevage</i>	<i>Temp. maximum</i> (° C)	<i>Temp. minimum</i> (° C)	<i>Temp. moyenne</i> (° C)	<i>Humidité (%)</i>	<i>Période</i>
No. 1	29.0	23.0	26.0	81.4	04.05 - 04.06
No. 2	28.0	22.5	25.0	84.8	19.08 - 14.09

After the classification of the cocoons harvested, the cocoons with normal pupas and with the dead or incomplete ones were counted separately for each kind of cocoons and the good cocoons with normal pupas were weighed with an electronic balance. Finally each of 50 female cocoons and 50 male cocoons were weighed one by one separately for each replication of the hybrid in order to compare the variation in the cocoon weight and the cocoon shell weight including the percentage of cocoon shell.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Comparison of the rearing performances among three crossing types of hybrids:

The rearing performances obtained for the three crossing types of hybrids in the first rearing of 1998 are presented in Table III. Due to a rather high temperature with an average of 26° C, the larval

duration was relatively shorter than the second rearing. However, in both rearing seasons no difference was observed in the larval duration among three crossing types and the average pupation rate of three-way and double cross hybrids was slightly higher than that of single cross, which coincides with the report of Morohoshi *et al.*, (1957). The three-way and double cross hybrids presented a higher percentage and yield of reelable cocoons than the single cross, and the double cross hybrids showed a higher weight of cocoon and cocoon shell, compared to the single and three-way crosses. There was no significant difference among the average percentage of cocoon shell of three crossing types.

The general results of the second rearing were better than those of the first rearing in the economic characters such as pupation rate and reelable cocoon yield, owing to the better conditions of rearing (Table II). The larval duration of all crosses delayed more than one day compared to the first rearing due to lower temperature, but not showing any difference among crossing types.

The cocoon yield, one of the most important characters for sericulture income, is determined by the percentage of pupation and the reelable cocoons including the average weight of a cocoon. In this character no difference was observed among three crossing types, owing to the similarity in the determinant characters mentioned above. Comparing the average of each crossing type, no significant difference was showed in the percentage of pupation and reelable cocoons, the weight and percentage of cocoon shell. In the second rearing, the average weight of single cocoon of the three-way cross was higher than that of the single or double crossed hybrid.

2. Comparison of the cocoon quality according to sex:

The quality of the silkworm cocoons such as the weight of cocoon and its shell and the percentage of cocoon shell during the rearing of May-June of 1998, is presented in Table V. Each result is an average performance obtained from 100 cocoons measured separately according to sex. The female cocoons showed a higher weight of cocoon and cocoon shell, while the male cocoons presented a higher percentage of cocoon shell.

It was not observed any difference between crossing types in the weight of female cocoon and its shell, but the double cross hybrids showed a higher weight in the male cocoon and its shell. It is necessary to provide the homogeneous quality of cocoons to produce an excellent quality of raw silk, which is greatly dependent on the quality of raw materials. Considering this relationship and the great difference of cocoon quality between sex, it is more probable to produce superior quality of raw silk by reeling cocoons separately according to their sex.

The table VI shows the quality of cocoons according to their sex that was obtained from the second rearing during August and September of 1998. In this rearing there was no difference among three crossing types in the weight of male cocoon and its shell including the percentage of male cocoon shell, that is a different result with that of the first rearing. The three-way cross presented a higher value in the cocoon weight of female and both sexes, compared to the single and double crosses, while the double cross hybrids showed a higher percentage of female cocoon shell. The three-way and double cross hybrids presented a higher value than the single cross in the average weight of female cocoon shell.

Comparing the rearing results in the cocoon quality obtained during these two seasons, it is very difficult and unreasonable to conclude which crossing type of silkworm is the best for the cocoon quality, therefore it is necessary to evaluate each hybrid without regarding the crossing type.

3. Comparison of coefficient of variation in the cocoon quality

The coefficient of variation calculated from 100 observations of both sexes in the weight of cocoon and cocoon shell as well as its percentage during the first rearing of May to June of 1998, is presented in Table VII. The single cross hybrids had a higher coefficient of variation than double cross hybrids in the weight of cocoon and cocoon shell of female and the average of both sexes. The coefficient of variation in the male cocoon characters was lower than that of the female characters and did not present any significant difference among the crossing types.

Table III. Rearing results of three crossing types during the first rearing 98.

Tableau III. Résultats d'élevage de trois types de croisements pendant le premier élevage 98.

Hybrid	Larval duration (Day. Hr)	Pupation rate (%)	Reelable cocoon (%)	Reelable cocoon yield (kg/box)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (cg)	Cocoon shell percent (%)
Hybride	Durée larvaire (Jour. Hr)	Taux de pupaison (%)	Cocons dévidables (%)	Rendement en cocons dévidables (kg/boîte)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque soyeuse (cg)	richesse soyeuse (%)
5 × H	21.21	70.5	60.6	21.4	2.42	55.5	23.1
5 × L	21.21	74.3	67.3	25.9	2.50	57.4	23.2
30 × H	21.21	74.3	60.6	24.0	2.40	56.5	23.9
30 × L	21.21	80.9	65.4	27.5	2.49	58.4	23.6
Single cross <i>Croisement simple</i>	21.21	75.0	63.5	24.7	2.45	57.0	23.5
5 × LH	21.21	76.9	68.0	27.2	2.41	54.5	22.8
30 × LH	21.21	84.3	71.6	31.0	2.49	58.8	23.8
530 × H	21.21	72.9	67.0	25.4	2.49	57.5	23.4
530 × L	21.21	78.6	72.1	28.9	2.45	57.3	23.6
Three way <i>Trois voies</i>	21.21	78.2	69.7	28.1	2.46	57.0	23.4
530 × LH	21.21	79.5	69.8	29.6	2.53	59.4	23.7
LH × 530	21.21	78.3	76.6	31.1	2.55	59.4	23.5
Double cross <i>Double croisement</i>	21.21	78.9	73.2	30.4	2.54	59.4	23.6
F-value	—	1.71	6.29**	5.15**	3.39*	4.41*	10.8**
LSD (5%)	—	NS	3.76	2.63	0.06	1.50	0.19
C.V. (%)	—	6.68	7.81	12.28	2.32	3.06	1.50

* The marks * and ** correspond to the significant difference at 5% and 1% respectively. / *Les caractères * et ** correspondent à la différence significative à 5 % et 1 % respectivement.*

LSD: Least significant difference / *Moindre différence significative.* NS: No significant / *Non significatif.* C.V.: Coefficient of variation / *Coefficient de variation.*

These abbreviations are the same for the rest of tables / *Ces abréviations sont les mêmes pour le reste des tableaux.*

Table IV. Rearing results of three crossing types in the second rearing 98.

Tableau IV. Résultats d'élevage de trois types de croisements pendant le deuxième élevage 98.

Hybrid	Larval duration (Day. Hr.)	Pupation rate (%)	Reelable cocoon (%)	Reelable cocoon yield (kg/box)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell wt. (cg)	Cocoon shell percent (%)
Hybride	Durée larvau e (Jour. Hr)	Taux de nympheose (%)	Cocons dévidables (%)	Rendement en cocons dévidables (kg/boîte)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque soyeuse (cg)	richesse soyeuse (%)
5 × H	23.01	86.8	85.0	38.3	2.39	54.6	22.9
5 × L	23.01	86.2	85.0	38.2	2.41	55.1	22.9
30 × H	23.01	91.5	78.1	38.1	2.41	56.6	23.5
30 × L	23.01	89.2	87.4	43.0	2.53	60.2	23.8
Single cross <i>Croisement simple</i>	23.01	88.4	83.9	39.4	2.43	56.6	23.3
5 × LH	23.01	91.2	89.3	41.1	2.43	55.1	22.7
30 × LH	23.01	88.2	82.9	37.8	2.45	57.0	23.3
530 × H	23.01	87.5	81.7	39.2	2.48	56.8	22.9
530 × L	23.01	90.0	79.6	38.9	2.52	58.5	23.2
Three way / <i>Trois voies</i>	23.01	89.2	83.4	39.2	2.47	56.8	23.0
530 × LH	23.01	88.2	82.6	37.1	2.47	57.2	23.2
LH × 530	23.01	92.5	85.4	38.6	2.39	56.4	23.6
Double cross <i>Double croisement</i>	23.01	90.3	84.0	37.9	2.43	56.8	23.4
F-value / <i>Valeur F</i>	—	0.69	3.73*	1.72	6.56**	5.07**	4.83*
LSD (5 %)	—	NS	3.55	NS	3.75	1.42	0.31
C.V. (%)	—	3.73	4.52	5.61	2.21	3.16	1.65

Table V. Cocoon quality of three crossing types during the first rearing 98.

Tableau V. Qualité du cocon de trois types de croisements pendant le premier élevage 98.

Hybrid	Weight of cocoon (cg)			Cocoon shell weight (cg)			Cocoon shell %		
	Female	Male	Average	Female	Male	Average	Female	Male	Average
Hybride	Poids du cocon (cg)			Poids de la coque soyeuse (cg)			% de richesse soyeuse		
	Femelle	Mâle	Moyenne	Femelle	Mâle	Moyenne	Femelle	Mâle	Moyenne
5 × H	272	213	242	58.3	52.7	55.5	21.4	24.8	23.1
5 × L	278	222	250	59.7	55.2	57.4	21.6	24.8	23.2
30 × H	272	207	240	59.6	53.4	56.5	21.9	25.8	23.9
30 × L	278	221	249	60.6	56.2	58.4	21.8	25.5	23.6
Single cross <i>Croisement simple</i>	275	216	245	59.6	54.4	57.0	21.7	25.2	23.5
5 × LH	269	214	241	56.7	52.4	54.5	21.1	24.5	22.8
30 × LH	278	220	249	61.0	56.7	58.8	21.9	25.7	23.8
530 × H	278	220	249	59.5	55.4	57.5	21.4	25.2	23.3
530 × L	272	217	245	59.1	55.4	57.2	21.7	25.5	23.6
Three way Trois voies	274	218	246	59.1	55.0	57.0	21.5	25.2	23.4
530 × LH	280	227	253	60.7	58.1	59.4	21.7	25.6	23.7
LH × 530	284	226	255	61.0	57.8	59.4	21.5	25.5	23.5
Double cross <i>Double croisement</i>	282	227	254	60.8	57.9	59.4	21.6	25.6	23.6
F-value	2.99	3.28*	3.39*	3.05*	4.46*	4.41*	2.13	11.07**	10.8**
LSD (5%)	NS	7.05	5.69	1.63	1.84	1.50	NS	0.25	0.19
C.V. (%)	1.92	3.19	2.32	2.58	3.91	3.06	1.44	1.83	1.50

Table VI. Cocoon quality of three crossing types in the second rearing 98.

Tableau VI. Qualité du cocon de trois types de croisements pendant le deuxième élevage 98.

Hybrid	Weight of cocoon (cg)			Cocoon shell weight (cg)			Cocoon shell %		
	Female	Male	Average	Female	Male	Average	Female	Male	Average
<i>Hybride</i>	<i>Poids du cocon (cg)</i>			<i>Poids de la coque soyeuse (cg)</i>			<i>% de richesse soyeuse</i>		
	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Moyenne</i>
5 × H	265	212	239	55.5	53.7	54.6	20.9	25.3	23.1
5 × L	266	215	241	56.1	54.2	55.1	21.1	25.2	23.1
30 × H	269	213	241	57.9	55.4	56.6	21.5	25.9	23.7
30 × L	283	223	253	62.0	58.4	60.2	21.9	26.2	24.1
Single cross <i>Croisement simple</i>	271	216	243	57.8	55.4	56.6	21.4	25.7	23.5
5 × LH	272	213	243	57.1	53.1	55.1	20.9	24.9	22.9
30 × LH	274	217	245	58.3	55.7	57.0	21.3	25.7	23.5
530 × H	276	220	248	57.7	55.9	56.8	20.9	25.5	23.2
530 × L	281	224	252	59.7	57.2	58.5	21.3	25.6	23.4
Three way <i>Trois voies</i>	276	218	247	58.2	55.5	56.8	21.1	25.4	23.3
530 × LH	274	219	247	58.7	55.8	57.2	21.4	25.4	23.4
LH × 530	266	211	239	57.9	55.0	56.4	21.7	26.0	23.9
Double cross <i>Double croisement</i>	270	215	243	58.3	55.4	56.8	21.6	25.7	23.6
F-value <i>Valeur F</i>	9.51**	2.94	6.56**	6.19**	3.02*	5.07**	4.37*	4.32*	4.83*
LSD (5 %)	3.62	NS	3.75	1.39	1.90	1.42	0.32	0.38	0.31
C.V. (%)	2.32	2.32	2.21	3.35	3.22	3.16	1.76	1.70	1.65

The Table VIII shows the coefficients of variation in the same characters observed during the second rearing of the year, in which the better environmental conditions and nutrition were provided. In this rearing, no significant difference was detected between the three crossing types in the coefficient of variation about the quantitative characters of cocoon quality, except in the weight of female cocoon in which a significant difference was observed between some hybrids, regardless of the crossing types.

Table VII. Coefficient of variation in cocoon quality in the first rearing 98.

Tableau VII. Coefficient de variation pour la qualité du cocon pendant le premier élevage 98.

Hybrid	Weight of cocoon (cg)			Cocoon shell weight (cg)			Cocoon shell %		
	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total
Hybride	Poids du cocon (cg)			Poids de la coque soyeuse (cg)			% de richesse soyeuse		
	Femelle	Mâle	Total	Femelle	Mâle	Total	Femelle	Mâle	Total
5 × H	8.64	7.29	14.79	9.79	8.35	10.42	5.12	4.75	8.86
5 × L	7.29	8.03	13.43	7.38	7.59	8.47	5.63	5.10	8.90
30 × H	7.58	7.02	15.56	8.11	8.26	9.86	4.58	4.68	9.40
30 × L	8.47	8.49	14.42	9.58	8.93	10.14	4.44	3.98	8.94
Single cross <i>Croisement simple</i>	7.99	7.71	14.55	8.71	8.28	9.72	4.95	4.63	9.03
5 × LH	7.66	6.97	13.57	8.79	8.79	9.64	4.15	5.02	8.75
30 × LH	7.64	6.42	13.65	9.71	8.19	9.72	4.96	4.23	9.21
530 × H	6.32	6.37	13.34	7.50	7.03	8.12	5.18	4.65	9.49
530 × L	6.79	5.79	12.97	7.51	7.22	8.04	4.12	4.27	9.09
Three way <i>Trois voies</i>	7.10	6.39	13.38	8.38	7.81	8.88	4.60	4.54	9.14
530 × LH	6.62	6.46	12.37	7.58	7.43	7.80	4.17	4.02	9.26
LH × 530	6.19	6.50	13.01	7.14	6.98	7.55	3.70	3.78	9.47
Double cross <i>Double croisement</i>	6.40	6.48	12.69	7.36	7.21	7.67	3.93	3.90	9.36
F-value	4.39*	2.10	3.81*	3.52*	2.18	4.95**	1.78	1.29	0.52
LSD (5%)	0.79	NS	0.98	1.15	NS	0.94	NS	NS	NS
C.V. (%)	12.5	14.2	7.7	14.2	10.9	13.0	16.2	13.6	5.1

Table VIII. Coefficients of variation in cocoon quality in the second rearing '98.

Tableau VIII. Coefficients de variation pour la qualité du cocon pendant le deuxième élevage '98.

Hybrid	Weight of cocoon (cg)			Cocoon shell weight (cg)			Cocoon shell %		
	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total
<i>Hybride</i>	<i>Poids du cocon (cg)</i>			<i>Poids de la coque soyeuse (cg)</i>			<i>% de richesse soyeuse</i>		
	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Total</i>	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Total</i>	<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	<i>Total</i>
5 × H	5.23	5.50	12.22	7.22	6.59	7.18	4.35	4.24	10.37
5 × L	5.94	6.66	12.30	7.80	7.67	7.91	4.13	3.82	9.79
30 × H	6.62	6.07	13.27	8.57	8.46	8.77	4.44	4.31	10.36
30 × L	5.76	5.43	13.22	7.08	6.31	7.33	4.49	3.44	9.81
Single cross <i>Croisement simple</i>	5.89	5.91	12.75	7.66	7.26	7.80	4.35	3.95	10.08
5 × LH	6.81	6.17	14.00	8.11	7.68	8.69	4.59	3.67	9.68
30 × LH	4.99	5.76	12.83	6.97	7.14	7.40	4.37	3.92	10.26
530 × H	4.90	6.05	12.55	6.68	7.29	7.16	5.13	4.47	10.86
530 × L	6.43	5.53	12.95	7.19	6.60	7.24	3.85	3.62	9.94
Three way <i>Trois voies</i>	5.78	5.88	13.08	7.24	7.18	7.62	4.48	3.92	10.19
530 × LH	6.36	6.23	12.77	7.53	7.31	7.85	4.28	4.04	9.50
LH × 530	5.23	5.08	12.68	6.35	6.55	6.95	3.86	3.57	9.73
Double cross <i>Croisement double</i>	5.80	5.65	12.73	6.94	6.93	7.40	4.07	3.81	9.61
F-value <i>Valeur F</i>	3.89*	1.60	1.44	2.07	2.09	2.41	0.75	1.60	2.01
LSD (5%)	0.72	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	13.5	10.2	5.3	11.0	11.2	9.9	13.1	11.3	5.1

Evaluating the results of variation in cocoon characters obtained in two rearing periods of the year 1998, none of the double cross hybrids presented higher coefficients of variation than the single cross hybrids in cocoon weight or in the weight and the percentage of cocoon shell. These results differ from the report of Watanabe (1961) in which the double cross hybrid manifested more variation in the weight of larval body and cocoon weight when these characters were compared according to the sex.

It cannot be concluded that the three-way and double cross hybrids present more variation than the single cross in the economic characters of cocoon quality, such as the weight of cocoon and cocoon

shell as well as the percentage of cocoon shell. On the contrary, it was observed in this research that the single cross hybrid manifested more variation in various characters of cocoon quality, especially during the first rearing.

In conclusion, it is not reasonable to deduce that the three-way and double cross hybrids have a higher variation than the single cross in the economic characters of cocoon, but it is necessary to evaluate the variation of cocoon quality for each hybrid that is produced between particular parental lines.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the National Service of Apprenticeship (SENA) of Colombia, and the authors are grateful to the officials of SENA for their financial assistance of the sericultural project in Colombia. The views expressed by the authors do not necessarily reflect the views of the funding agencies.

REFERENCES

- FALCONER S.D. (1981) Introduction to quantitative genetics. Longman Scientific and Technical. London. Third ED. 438 p.
- GAMO T. (1976) Recent concepts and trends in silkworm breeding. *Farming Japan*. 10(6), 11-22.
- HARADA C. (1961) Heterosis of the quantitative characters in the silkworm. *Bull. Sericult. Exp. Sta., Japan* 17(1), 1-52.
- HIRATA Y. (1985) Economic characters in the double crosses of the silkworm *Bombyx mori*. *Acta Sericologia Japan*. 133, 41-59.
- JENKINS M.T. (1934) Methods of estimating the performance of double crosses in corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 26, 199-204.
- MINAGAWA I. & OTSUKA Y. (1975) Relationships of actual performance of double cross hybrids and predicted value based on the mean value of the single crosses concerned in the silkworm, *Bombyx mori*. *Japan J. breed.*, 25(5), 251-257.
- MOROHOSHI S., MASAKI & TAKADA (1957) Comparison test of single cross and double cross hybrids. *Symp. Jap. Sericult.*, 15, p. 30.
- TAZIMA Y. (1956) Heterosis in pure lines and hybrids. *Training manual for technology of silkworm eggs*. p. 83-94.
- TOYAMA K. (1906) Mendel's law of heredity as applied to the silkworm crosses. *Biol. Central Bl.* 26, 317-322.
- WATANABE H. (1959) Relationship between the variation of cocoon weight and the crossing types of hybrids. *Symp. Jap. Sericult.* p48-49.
- WATANABE H. (1961) Studies on the difference in the variability of larval body and cocoon weights between single cross and three-way cross or double cross hybrids in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*. 30, 463-467.
- YOKOYAMA T. (1973) Studies on the improvement in the efficiency of egg production by means of polyhybridization. *Institute of Silkworm Genetics and Breeding*. No. 22, 6-16.

COMPARAISON DES VARIATIONS DE QUALITE DES COCONS CHEZ LES HYBRIDES SIMPLES, DOUBLES ET TROIS VOIES CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI*

K. - W. SOHN* & L. RAMIREZ

Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS) A.A. 733, Pereira, Risaralda, Colombie.

*Afin de comparer les variations de qualité des cocons entre trois types de croisements chez *Bombyx mori*, des hybrides simples, doubles et trois voies, obtenus à partir de quatre lignées parentales de la variété commerciale actuelle en Colombie, ont été évalués à l'aide de deux élevages test en 1998. La performance moyenne des hybrides doubles fut meilleure que celle des hybrides simples en ce qui concerne les caractères économiques tels que le rendement de dévidabilité du cocon, le poids du cocon et de sa coque pour le premier élevage, alors que des différences insignifiantes ont été observées entre les croisements du deuxième élevage. En comparant le coefficient de variation du poids du cocon et de la coque pendant le premier élevage, les hybrides simples manifestèrent une plus grande variation que les hybrides doubles et trois voies, ce qui va à l'encontre de ce qui était attendu, alors qu'aucune différence significative n'a été observée pour la richesse soyeuse entre les trois croisements. Pendant le second élevage, de petites différences significatives concernant la qualité du cocon apparurent entre les trois types de croisement, pour le poids du cocon ainsi que le pourcentage et le poids de la coque. En conclusion, il n'est pas raisonnable de déduire que les croisements doubles et trois voies présentent une variation plus grande que les croisements simples en ce qui concerne les caractères économiques des cocons de ver à soie, il est plutôt nécessaire d'évaluer la variation de la qualité des cocons pour chaque hybride produit entre des lignées particulières.*

INTRODUCTION

L'hétérosis ou la vigueur hybride est le phénomène par lequel le croisement entre deux variétés ou deux lignées différentes produit un hybride qui est supérieur en croissance, taille, rendement ou vigueur générale (Falconer, 1981). Depuis les années 1920, les hybrides F1 ont été largement utilisés à des fins de production commerciale de cocons, après la découverte de l'hétérosis des différents caractères économiques du ver à soie par Toyama (1906), ce qui permit à la sériciculture de faire d'énormes progrès. Lorsque la vigueur hybride fut calculée sur la base de la valeur du parent moyen, le rendement du cocon et le poids du filament révélèrent 37,1 % et 22,5 % d'effets hybrides (Harada, 1961).

Les variétés commerciales actuelles de vers à soie sont produites par des croisements simples, doubles ou trois voies. Grâce aux efforts des graineurs de vers à soie, les variétés récentes ont un taux élevé de richesse soyeuse et de soie grège, ce qui est en corrélation négative avec la productivité en oeufs des lignées parentales. Afin d'améliorer le rendement en oeufs, les hybrides doubles ont été largement utilisés pour la production commerciale des oeufs (Gamo, 1976 ; Hirata, 1985).

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée. Fax.: 57-63-299915. E-mail: cdtis@pereira.multi.net.co

Les résultats de la comparaison des caractères économiques entre les hybrides simples et doubles diffèrent d'après les chercheurs, selon les matériels utilisés et les conditions fournies. Aucune différence n'a été remarquée entre les croisements simples et trois voies en ce qui concerne les caractères de santé, tels que le pourcentage de nymphose et la mortalité ; par contre, dans le cas de mauvaises conditions d'élevage, il existe des différences d'hétérosis entre les croisements simples et trois voies (Tazima, 1956). Il a été rapporté que les hybrides simples révélaient moins de variations de qualité que les croisements trois voies ou doubles, pour le poids larvaire et la qualité des cocons (Watanabe, 1961). Les hybrides trois voies et doubles montrèrent une variabilité plus grande que les hybrides simples, pour le poids et l'uniformité des cocons, en comptant la variation du titre de la bave du cocon (Watanabe, 1959). Il existe un autre rapport affirmant qu'aucune différence n'a été observée pendant le stade larvaire chez les croisements, alors que les croisements trois voies et doubles étaient plus avantageux que les croisements simples en ce qui concerne la durée de la nymphose, le poids du cocon et de la coque (Morohoshi et coll., 1957).

Hirata (1985) a confirmé que le type de croisement double $(J_1.C_1) \times (J_2.C_2)$ était inférieur au type $(J_1.J_2) \times (C_1.C_2)$, où J et C représentent respectivement les races japonaises et chinoises, avec plus de variation dans le poids du cocon, une plus grande durée larvaire, un poids larvaire moindre, un taux de mortalité plus élevé, un poids du cocon et de la coque moindre ainsi qu'une bave plus courte et plus fine et plus de défauts de soie grège.

Selon Yokoyama (1973), le type de croisement double ordinaire $(J_1.J_2) \times (C_1.C_2)$, produit 30 % de plus d'oeufs de vers à soie hybrides pour la même quantité de cocons parentaux que le croisement simple ; aucune différence ne fut détectée entre les deux types de croisements pour les autres caractères économiques, comme le rendement en cocon et la qualité du cocon. C'est pour cette raison que les hybrides doubles ont eu plus de succès pour la production commerciale des oeufs.

Les performances des croisements doubles et trois voies peuvent être prévues avec quasi certitude, d'après les résultats des croisements constitutifs simples. L'une de ces méthodes est celle de Jenkin (1934), pour laquelle les performances de l'hybride double $(A.B) \times (C.D)$, peuvent être considérées comme le rendement moyen des quatre croisements non-parentaux, tels que $A \times C$, $A \times D$, $B \times C$ et $B \times D$, où A, B, C et D représentent quatre lignées différentes. En utilisant cette méthode, Minagawa & Otsuka (1975) établirent que la corrélation entre les performances effectives des hybrides doubles et la valeur moyenne des quatre croisements simples était élevée en ce qui concerne les caractéristiques hautement héréditaires, comme la richesse soyeuse et le pourcentage de soie grège, la longueur et le titre de la bave, alors qu'il était bas en ce qui concerne le taux de nymphose, le rendement en cocons et la dévidabilité des cocons.

L'hybride commercial actuel en Colombie "Pilamo 1" est un hybride double produit à partir de deux lignées de race japonaise ($K05 \times K30$) et de deux lignées de race chinoise ($CLS \times CHS$). La raison principale de la commercialisation de l'hybride double en Colombie est que, sous des conditions tropicales, il est plus avantageux et plus sûr de produire des oeufs hybrides doubles. Il a été considéré qu'il serait intéressant de développer une étude afin de comparer la qualité et la variation des cocons entre les hybrides simples, doubles et trois voies en utilisant les lignées pures qui produisent l'hybride actuel dans le but de savoir quel type de croisement est plus avantageux pour la production des cocons sous des conditions tropicales.

MATERIELS ET METHODES

Cette expérience a été conduite à la ferme expérimentale du Centre of Technological Development for Sericulture (CDTS), situé à Pereira, en Colombie à une altitude de 1070 mètres au-dessus du niveau de la mer et avec une moyenne de 1,930 mm de précipitations par an. L'hybride commercial actuel en Colombie est "Pilamo 1", qui est un croisement double produit par hybridisation entre deux lignées japonaises $K05 \times K30$ et deux lignées chinoises $CHS \times CLS$. Afin de comparer

les effets de trois types de croisements sur la qualité des cocons, 4 croisements simples, 4 croisements trois voies et deux hybrides doubles ont été étudiés comme suit :

Croisements simples : $K05 \times CHS$ ($5 \times H$), $K05 \times CLS$ ($5 \times L$), $K30 \times CHS$ ($30 \times H$) et $K30 \times CLS$ ($30 \times L$).

Croisements trois voies : $K05 \times (CLS \times CHS)$ ($5 \times LH$), $K30 \times (CLS \times CHS)$ ($30 \times LH$), $(K05 \times K30) \times CHS$ ($530 \times H$) et $(K05 \times K30) \times CLS$ ($530 \times L$).

Croisements doubles : $(K05 \times K30) \times (CLS \times CHS)$ ($530 \times LH$) et $(CLS \times CHS) \times (K05 \times K30)$ ($LH \times 530$).

Afin d'évaluer les 10 hybrides issus des trois types de croisements, chaque hybride a subi deux réplifications de 300 vers à soie et un plan totalement aléatoire a été appliqué pour obtenir des données objectives. La même conception d'expérience fut répétée pendant une saison d'élevage différente en 1998, dont le détail des dates des deux élevages est présenté dans le Tableau I.

Tous les oeufs de vers à soie des deux élevages ont été produits pendant le mois de février 1998 ; les oeufs utilisés pour le premier élevage ont été traités avec de l'acide chlorhydrique après avoir subi une réfrigération à $5^{\circ}C$ pendant deux mois, tandis que les oeufs incubés pour le deuxième élevage ont été mis en hibernation artificielle entre $2,5^{\circ}$ - $5^{\circ}C$ pendant 5 mois.

Entre 24 et 48 heures après la troisième mue, 300 vers à soie ont été placés séparément pour chaque réplification dans des claies d'élevage de $1,0 \times 0,7$ m et le même traitement fut administré à tout l'élevage. Pendant le stade cocon les vers à soie morts ont été comptés pour calculer le taux de nymphose.

La température et les précipitations sont des facteurs très importants pour la croissance des mûriers et l'élevage des vers à soie. Les températures maximales et minimales ainsi que les précipitations pendant la conduite de l'expérience ont été observées à la station météorologique de la ferme expérimentale du CDTS et sont présentées en Figure 1. Il a été remarqué que pendant la saison d'élevage, la température était adéquate avec des précipitations suffisantes durant le mois qui précédait chacun des élevages, ce qui permit d'obtenir une qualité excellente de feuilles de mûrier. La température extérieure et les précipitations dont les résultats sont exposés dans le Tableau II, affectèrent la température intérieure et l'humidité relative de la pièce d'élevage. Pendant le premier élevage, la température maximale atteignit $29,0^{\circ}C$ et une moyenne de $26,0^{\circ}C$, ce qui est considéré comme étant un peu élevé pour l'élevage des vers à soie, tandis que la température d'une moyenne de $25^{\circ}C$, pendant le second élevage, était plus adéquate pour les vers à soie.

Après la classification des cocons récoltés, un comptage individuel des cocons à chrysalide normale, morte ou incomplète fut effectué respectivement pour chaque catégorie de cocons; les cocons à chrysalide normale ont été pesés à l'aide d'une balance électronique. Finalement, les 50 cocons femelles et les 50 cocons mâles ont été pesés individuellement et séparément pour chaque réplification de l'hybride afin de comparer les variations du poids du cocon et de la coque ainsi que celles de la richesse soyeuse.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Comparaison des performances d'élevage sur trois types de croisements hybrides :

Les performances d'élevage obtenues sur les trois types de croisements d'hybrides, pendant le premier élevage de 1998 sont présentées dans le Tableau III. En raison d'une température relativement élevée d'une moyenne de $26^{\circ}C$, la durée de la période larvaire fut relativement plus courte que celle du second élevage. Cependant, pour les deux saisons d'élevage, aucune différence n'a été observée sur trois types de croisement hybrides et la moyenne du taux de nymphose des hybrides trois voies et doubles était légèrement plus élevée que celle des hybrides simples, ce qui coïncide avec le rapport de Morohoshi et coll., (1957). Les hybrides trois voies et doubles présentèrent un pourcentage et un rendement plus élevés en cocons filables que les hybrides simples et trois voies. Il n'y a pas eu de différence significative du pourcentage moyen des coques pour les trois types de croisements.

L'ensemble des résultats du second élevage était meilleur que celui du premier en ce qui concerne les caractères économiques tels que le taux de nymphose et le rendement en cocons filables, ceci étant dû à de meilleures conditions d'élevage (Tableau II). La durée de la période larvaire de tous les croisements a été retardée de plus d'un jour par rapport au premier élevage à cause de températures plus basses, mais aucune différence ne fut observée chez les trois types de croisements.

Le rendement en cocons, une des caractéristiques les plus importantes pour le revenu de la sériciculture, est déterminé par le pourcentage de nymphose, la filabilité des cocons ainsi que le poids moyen d'un cocon. Selon cette caractéristique, aucune différence n'a été observée sur les trois types de croisements, ceci étant dû à la similarité des caractéristiques déterminantes mentionnées plus haut. En comparant la moyenne de chaque espèce croisée, aucune différence significative n'a été observée en ce qui concerne le pourcentage de nymphose et de cocons filables, le poids et la richesse soyeuse. Pour le second élevage, le poids moyen d'un cocon issu d'un croisement trois voies était plus élevé que celui d'un hybride simple ou double.

2. Comparaison de la qualité des cocons selon leur sexe :

Les paramètres de qualité des cocons de vers à soie tels que le poids du cocon et de la coque ainsi que la richesse soyeuse pendant l'élevage de mai à juin 1998, sont présentés dans le Tableau V. Chaque résultat est une moyenne des performances obtenue sur 100 cocons évalués séparément selon leur sexe. Les cocons femelles montrèrent un poids plus élevé pour le cocon et pour la coque, alors que les cocons mâles présentèrent une richesse soyeuse plus élevée.

Il n'a pas été observé de différences entre les types de croisements en ce qui concerne le poids du cocon femelle et de la coque, mais chez les hybrides doubles, les poids du cocon mâle et de la coque étaient plus élevés. Il est nécessaire de fournir une qualité homogène de cocons afin de produire une excellente qualité de soie grège, ceci étant largement dépendant de la qualité des matériaux de base. Si l'on prend en compte cette relation et la grande différence de qualité des cocons selon leur sexe, il existe plus de chances de produire une qualité supérieure de soie grège en filant les cocons séparément en fonction de leur sexe. Le Tableau VI expose les résultats obtenus dans le second élevage d'août à septembre 1998, en fonction des sexes. Pendant cet élevage, il n'y a pas eu de différence entre les trois types d'hybrides en ce qui concerne le poids du cocon mâle et de sa coque ainsi que la richesse soyeuse mâle, ce qui représente un résultat différent de celui du premier élevage. Les croisements trois voies présentèrent une valeur plus importante pour le poids du cocon chez les deux sexes, comparée aux croisements simples et doubles, tandis que les hybrides doubles montrèrent un pourcentage de coques femelles plus élevé. Les hybrides trois voies et doubles présentèrent une valeur plus élevée que le croisement simple en ce qui concerne le poids moyen des coques femelles.

Lorsque l'on compare les résultats d'élevage en matière de qualité des cocons, obtenus pendant ces deux saisons, il est très difficile et irraisonnable de conclure quel type de croisement de ver à soie est le plus approprié pour la qualité des cocons, c'est pourquoi il est nécessaire d'évaluer chaque hybride sans tenir compte du type d'hybride.

3. Comparaison du coefficient de variation de la qualité des cocons :

Le coefficient de variation calculé à partir de 100 observations chez les deux sexes, pour le poids du cocon et de la coque ainsi que pour sa richesse soyeuse pendant le premier élevage de mai à juin 1998, est présenté dans le Tableau VII. Les hybrides simples ont donné un coefficient de variation plus élevé que celui des hybrides doubles pour le poids des cocons et de leurs coques chez les femelles et la moyenne chez les deux sexes. Le coefficient de variation pour les caractéristiques des cocons mâles est inférieur à celui des femelles et ne présente pas de différences significatives entre les croisements. Le Tableau VIII donne les coefficients de variation des mêmes caractéristiques observées pendant le second élevage de l'année, pendant lequel de meilleures conditions d'environnement et de nutrition ont été fournies. Lors de cet élevage, aucune différence significative ne fut détectée entre les trois types d'hybrides en ce qui concerne le coefficient de variation à propos des caractéristiques

quantitatives de qualité des cocons, à l'exception du poids des cocons femelles pour lequel une différence significative fut observée entre certains hybrides, quel que soit le type d'hybride.

Lorsque l'on évalue les résultats de variation des caractéristiques des cocons, obtenus pendant les deux périodes d'élevage de l'année 1998, aucun des hybrides doubles ne présenta de coefficients de variation plus élevés que ceux des hybrides simples, en ce qui concerne le poids des cocons ou le poids et le pourcentage des coques. Ces résultats diffèrent de ceux du rapport de Watanabe (1961) où il était exposé que les hybrides doubles manifestaient plus de variation pour les poids du corps larvaire et du cocon lorsque ces caractéristiques furent comparées en fonction du sexe.

Il ne peut pas être conclu que les hybrides trois voies et doubles présentent plus de variation que les hybrides simples en ce qui concerne les caractéristiques économiques de qualité des cocons, tels que le poids des cocons et des coques ainsi que la richesse soyeuse. Par contre, il a été observé lors de cette étude que les hybrides simples manifestaient plus de variations pour diverses caractéristiques de qualité des cocons, particulièrement pendant le premier élevage.

En conclusion, il n'est pas raisonnable de dire que les hybrides trois voies et doubles ont une variation plus grande que les croisements simples en ce qui concerne les caractéristiques économiques des cocons, mais il est nécessaire d'évaluer la variation de qualité des cocons pour chaque hybride qui est issu de lignées parentales particulières.

TRANSIENT EXPRESSION OF β -GLUCURONIDASE GENE TRANSFERRED INTO LEAF TISSUES OF MULBERRY SEEDLINGS BY THE PARTICLE INFLOW GUN

Y. SUGIMURA¹, T. ADACHI¹, Y. UEDA¹, M. ABE², E. KOTANI¹ & T. FURUSAWA¹

1. Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo, Kyoto 606-0962, Japan.

2. Tanaka Co., Ltd., Shinko-nishi, Ishikari, Hokkaido 061-3241, Japan.

*Successful transient expression of β -glucuronidase (GUS) gene was observed in the basal leaf tissues of mulberry (*Morus alba* L. cv. Ichinose) seedlings, using a bombardment device named 'particle inflow gun'. The bombardment efficiency was significantly enhanced by the optimization of bombardment parameters and by the selection of target tissues. A higher frequency of transient expression of GUS gene was obtained, when detached leaves were pre-cultured on the medium containing 10^{-5} M thidiazuron and 10^{-7} M 2, 3, 5-triiodobenzoic acid, and then used as a source of target tissues. In addition, the bombardment efficiency depended on two major parameters: helium pressure and distance between a holder with DNA-coated gold particles and leaf tissue to be bombarded. The particle bombardment approach of gene delivery appears to have a potential for generating transgenic mulberry plants from leaf tissues, since efficient plant regeneration from the basal leaf tissues of mulberry seedlings was recently established.*

Keywords: Bombardment, transient expression of GUS gene, mulberry.

INTRODUCTION

Particle bombardment offers a rapid method for delivery of DNA to plant cells in the study on transient gene expression and stable transformation. The main benefit of this method is that intact tissues can serve as the target. Most of the reports on particle bombardment have utilized the same basic concept for particle acceleration and delivery: a force provided by either an explosion or an expansion of compressed gas propels a macrocarrier holding DNA-coated-particles towards an immobile object (a stopping screen; a ring with a small hole in the center) which retains the macrocarrier but permits the particles to pass. Recently, devices that accelerate DNA-coated particles directly in a stream of helium gas have been developed (Takeuchi *et al.*, 1992; Kim and Minamikawa, 1996), named the 'particle inflow gun (PIG)' (Finer *et al.*, 1992). This is a simple and inexpensive particle bombardment device for delivery of DNA to plant cells.

Recent advances in genetic engineering enable the production of various biomolecules in transformants of annual crops. Mulberry plant, a woody feedcrop for the silkworm, is an attractive species as a target of 'molecular farming' because of its agronomical characteristics as follows: (1) high production yield of leaf biomass, (2) sustainable production of the aimed biomolecules for long time without replanting, (3) compared to annual crops, relatively high resistance to environmental conditions and pest attacks, (4) low input cost for growth maintenance. Transgenic mulberry clones, if produced, may provide effective alternatives to microbial and animal systems for the production of biomolecules. Our recent study demonstrated that efficient shoot organogenesis was induced from

the basal leaf tissues of mulberry seedlings and complete plantlets were produced from the regenerated shoots (Sugimura *et al.*, 1998, 1999; Adachi *et al.*, 1999). This establishment encourages us to produce transgenic mulberry plants from leaf tissues by particle bombardment, although transient gene expression was not successful when particle bombardment was applied to immature leaves from mulberry winter buds (Machii *et al.*, 1996).

The present paper describes the transient expression of β -glucuronidase (GUS) gene delivered into leaf cells of mulberry seedling by PIG device, particularly with focusing on optimization of bombardment parameters and selection of target tissues to be bombarded.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials and plasmid:

Seeds of mulberry (*Morus alba* cv. 'Ichinose') were sterilized in a 1 % solution of sodium hypochlorite. After washing thoroughly with sterile water, they were grown on the solid medium containing 10^{-5} M 6-benzylaminopurine under the fluorescent lighting with 12 hr cycles at 28° C (Sugimura *et al.*, 1998; 1999). For particle bombardment, two types of leaf sample were prepared from the fully-expanded 1st and 2nd leaves which were detached 30 days after sowing: (1) initial leaf sample: the basal tissue portions (5 mm^2) were excised from the half population of obtained leaves and immediately used for particle bombardment, and (2) pre-cultured leaf sample: the other half of the leaves was cultured on the medium supplemented with 10^{-3} M thidiazuron and 10^{-7} M 2, 3, 5-triiodobenzoic acid for 10-15 days. The leaf size increased about 3.5 times larger in area as initial leaves during pre-culture. Their basal leaf tissues (1 cm^2) including the midrib were excised for bombardment.

The used plasmid, pBI 221, contained the chimeric gene encoding the β -glucuronidase (GUS) reporter gene under control of cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter (Jefferson, *et al.* 1988). *Escherichia coli* JM 109 was transformed with this plasmid. Large scale plasmid isolation from *E. coli* was performed using alkaline lysis-SDS method (Birnboim and Doly, 1979) and separated by cesium chloride density gradient twice. Purified plasmid was precipitated by ethanol and dissolved in sterile TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0) at 1.0 mg / ml.

DNA-coated gold particles:

Gold particles (Aldrich Chem.) with an average size of 2.0 μm were coated with plasmid DNA as described by Klein *et al.* (1988). Briefly, 0.3 mg gold particles were suspended in 50 μl water. To the gold particle suspension, 10 μl of 1 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ plasmid DNA, 50 μl of 2.5 M CaCl_2 and 20 μl of 0.1 M spermidine were sequentially added. After a vigorous shaking, the resulting suspension was centrifuged to collect DNA-coated particles, washed with 70 % ethanol, and resuspended in 50 μl of abs. ethanol.

Particle bombardment:

For particle bombardment, a PIG device (Model GIE-III, Tanaka Co., Ltd., Japan) was used. The basic system of this device has been described by Takeuchi *et al.* (1992) and Fimer *et al.* (1992). For surveying physical factors for bombardment, two major parameters were taken into account: pressure of helium gas; and distance between particle holder and target sample. Other parameters were set as follows: time of bombardment, 0.025 s; and vacuum of the sample chamber, 600 mmHg.

The leaf samples were placed on filter paper, and covered with stainless mesh (4 x 4 mm) to avoid the dislodging of leaf pieces as target tissue in the stream of helium gas. The suspension of DNA-coated gold particles (5 μl) was dropped in the particle holder and then air-dried. Gold particles (0.03 mg) coated with 1.0 μg plasmid DNA were used for each bombardment.

Transient expression assay for GUS gene:

The bombardment efficiency was evaluated as transient GUS activity. Leaf tissues were stained 2 days following bombardment according to a method reported by Jefferson *et al.* (1987). The solution of 1 mM 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (X-gluc) in 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) was vacuum-infiltrated into leaf tissues and incubated overnight at 37° C. The blue spots which appeared were counted under a light microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

For efficient delivery of GUS gene by PIG device, it is necessary to optimize two major physical parameters: pressure of helium gas; and distance between a particle holder and target tissues. The combination of these parameters is shown in Table I. Transient expression of GUS gene was visualized as blue spots in the bombarded leaf tissues (Fig. 1). After bombardment, the number of blue spots was counted in two types of leaf samples incubated for 2 days. Using initial leaf samples, blue spots could scarcely be observed in any combination of two parameters. In contrast, the number of spots significantly increased in pre-cultured leaf tissues which were placed at 8.5 cm and 11.5 cm distances from particle holder and shot at 6 kgf / cm² of helium pressure (Exp. 1 in Table I). This result was confirmed by an additional experiment (Exp. 2 in Table I), showing that the blue spots consistently appeared in the distance ranging from 8.5 cm to 11.5 cm. Closer distance to the holder and higher pressure of helium gas induced browning damage in the entire tissue bombarded (Fig. 2). From two sets of experiment, the optimum bombardment condition was appeared to be 6 kgf / cm² pressure and 10.5 cm distance. Under this condition, the *in situ* pressure force on the surface of target tissue was in the range of 18-19 gf / cm². The blue spots located not only in the lamina but also in the veins including the midrib (Fig. 1).

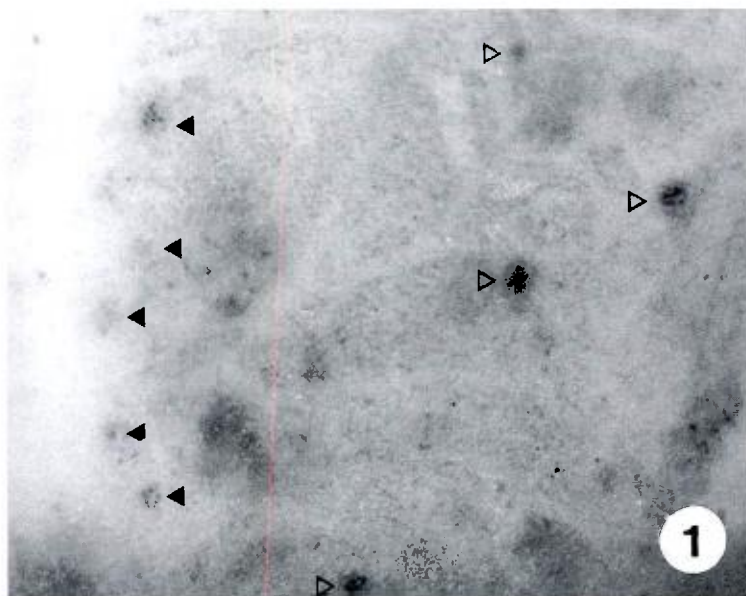


Fig. 1. Transient expression of GUS gene in pre-cultured tissue. Blue spots appeared in the midrib zone are indicated by closed triangles and spots in the lamina are marked by open triangles. Bar: 1mm

Fig. 1. Expression transitoire du gène GUS dans un tissu pré-cultivé. Les points bleus apparus dans la zone médiane sont indiqués par des triangles fermés et les taches dans le limbe sont indiqués par des triangles ouverts.

Barre : 1mm

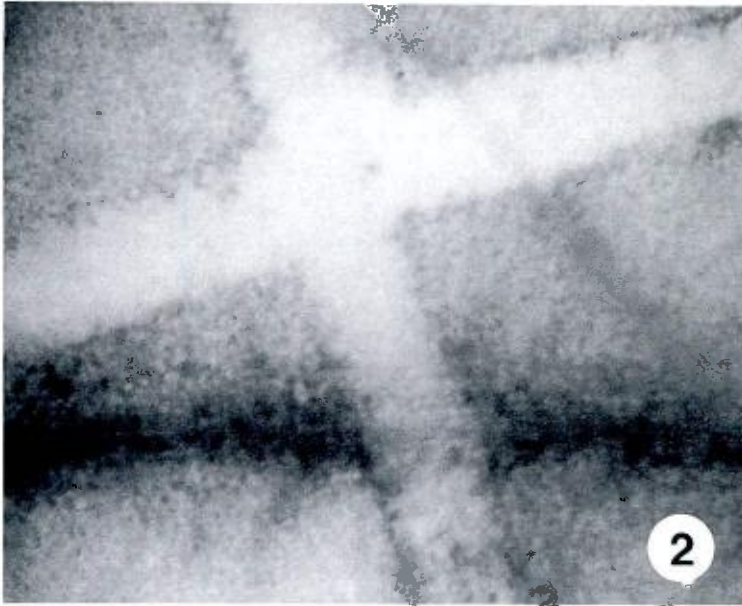


Fig. 2. A damaged tissue by bombardment. Whitish cross shows an undamaged area where the steel mesh was covered. Bar: 1mm.

Fig. 2. Un tissu endommagé par bombardement. Une croix blanchâtre marque la zone inattaquée couverte par la structure maillée. Barre: 1 mm.

Various factors affecting bombardment efficiency were considered: target tissues to be bombarded; bombardment parameters and plasmid constructs. Machii *et al.*, (1996) reported that transient expression of GUS gene delivered to mulberry cells by bombardment was greatly dependent on target tissues used: transient GUS expression was detected only in suspension-cultured cells, but no expression in immature leaves from winter buds. These results indicate that GUS expression was variable in target tissues used, not due to the used promoter, CaMV 35S promoter. Dependence on target tissue was confirmed by the present study. Pre-cultured tissues permitted to induce GUS gene expression, while no promising sign was observed in freshly-harvested tissues. Pre-culture treatment enlarged leaf size, implying that cellular expansion took place during pre-culture period. It is likely that penetrability of DNA-coated gold particles into cells was enhanced by decreasing rigidity of cell wall in response to cellular expansion. Additionally, pre-cultured tissues might be physiologically active to support gene expression rather than non-precultured tissues.

Although GUS expression could be detected in pre-cultured leaf tissue under the optimized conditions mentioned above, the bombardment efficiency was relatively low. When same plasmid (pBI 221) was delivered to carrot calli and patchouli leaf tissues by PIG device, high level of bombardment efficiency was obtained (data not shown). Cultured cells have thin cell walls, so that gold particles coated with plasmid DNA might easily penetrate into cells. As to leaf tissues, the structures of cell wall and cuticle might be different between mulberry and herbaceous plants, which appeared to be a key factor affecting bombardment efficiency.

It was demonstrated that efficient shoot organogenesis and plantlet regeneration were induced from leaf tissues of mulberry seedlings, particularly the midrib in the basal tissues of a leaf (Sugimura *et al.*, 1998; 1999). This system for tissue-to-plantlet regeneration is thought to be useful for the production of transgenic mulberry by particle bombardment. Therefore, target samples for bombardment were prepared from leaves of mulberry seedlings according to a two-step culture procedure reported previously (Sugimura *et al.*, 1998). The leaf samples prepared in such a manner maintained shoot organogenic capability in the midrib zone, even after being pre-cultured. Successful transient expression of GUS gene was found not only in lamina but also in the zone of midrib (Fig 1).

If a plasmid encoding an appropriate gene for selection is used instead of pBI 221, transgenic mulberry clones are possibly isolated from the midrib zone after bombardment and selection procedures.

Table I. Transient expression of GUS gene in various bombardment conditions

Tableau I. Expression transitoire du gène GUS lors de conditions variables de bombardement

	Pressure (kgf / cm ²)	Distance cm	No. of blue spots / cm ² * Nb. de points bleus / cm ²	
	Pression (kgf / cm ²)		Initial leaf tissue Tissu de la feuille initiale	Pre-cultured leaf tissue Tissu de la feuille pré-cultivée
Exp 1	2	5.5	ND	ND
		8.5	ND	ND
		11.5	1.0	ND
	4	5.5	D	D
		8.5	ND	2.5
		11.5	ND	ND
	6	5.5	D	D
		8.5	1.0	5.5
		11.5	ND	6.0
Exp 2	6	8.5	-	1.3
		9.5	-	2.5
		10.5	-	4.3
		11.5	-	2.7

Each bombardment was conducted using 2 pieces of basal leaf tissue for Exp. 1 and 6 pieces for Exp. 2 / *Chaque bombardement a été mené en utilisant 2 fragments de tissu basal de la feuille pour l'Exp. 1 et 6 fragments pour l'Exp. 2.*

ND: not detected / *non détecté*, **D:** damaged / *endommagé*, **-:** not tested / *non testé*.

*: Average of 3 replicates / *Moyenne de 3 répliques.*

In conclusion, successful transient expression of GUS gene was obtained by (1) the use of pre-cultured leaf tissues of mulberry seedlings and (2) the optimization of two major bombardment parameters. These results may accelerate the study on production of transgenic mulberry by particle bombardment.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported in part by a Grand-in-Aid for Scientific Research (B) from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

REFERENCES

- ADACHI T., SUGIMURA Y., KOTANI E., FURUSAWA T. (1999) Adaptability of mulberry plantlets regenerated *in vitro* to outdoor conditions. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 68, 161-163.
- BIRNBOIM HC., DOLY J. (1979) A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant DNA. *Nucleic Acids Res.*, 7, 1513-1523.
- FINER JJ., VAIN P., JONES MW., MCMULLEN MD. (1992) Development of the particle inflow gun for DNA delivery to plant cells. *Plant Cell Rep.*, 11, 323-328.
- JEFFERSON RA., KAVANAGH TA., BEVAN MW. (1987) GUS fusions: β -glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J.*, 6, 3901-3907.
- KIM JW., MINAMIKAWA T. (1996) Transformation and regeneration of French bean plants by the particle bombardment process. *Plant Sci.*, 117, 131-138.
- KLEIN TM., GRADZIEL T., FROMM ME., SANFORD JC. (1988) Factors influencing gene delivery into *Zea mays* cells by high-velocity microprojectiles. *Bio / tech.*, 6, 559-563.
- MACHII H., SUNG G-B., YAMANOUCHI H., KOYAMA A. (1996) Transient expression of GUS gene introduced into mulberry plant by particle bombardment. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 65, 503-506.
- SUGIMURA Y., ADACHI T., KOTANI E., FURUSAWA T. (1998) Shoot bud formation and plantlet regeneration from the basal tissues of mulberry leaves. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 67, 421-425.
- SUGIMURA Y., ADACHI T., KOTANI E., FURUSAWA T. (1999 a) Efficient induction of shoot organogenesis from leaves of mulberry seedlings using 2, 3, 5-triiodobenzoic acid. *Plant Biotech.*, 16, 123-127.
- TAKEUCHI Y., DOTSON M., KEEN NT. (1992) Plant transformation: a simple particle bombardment device based on flowing helium. *Plant Molec. Biol.*, 18, 835-839.

EXPRESSION TRANSITOIRE DU GÈNE DE LA β -GLUCURONIDASE TRANSPLANTE DANS DES TISSUS FOLIAIRES DE POUSSÉS DE MURIER A L'AIDE D'UN CANON A PARTICULES

Y. SUGIMURA¹, T. ADACHI¹, Y. UEDA¹, M. ABE, E. KOTANI & T. FURUSAWA

1. Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Sakyo, Kyoto
606-0962, Japon.

2. Tanaka Co., Ltd., Shinko-nishi, Ishikari, Hokkaido 061-3241, Japon.

*L'expression transitoire réussie du gène de la β -glucuronidase (GUS) a été observée dans les tissus basaux de feuilles de pousses de mûrier (*Morus alba* L. cv. Ichinose) en utilisant un dispositif de bombardement appelé 'canon à flot de particules'. L'efficacité de bombardement a été augmentée de façon significative en optimisant les paramètres et en sélectionnant les tissus cibles. Une augmentation de la fréquence de l'expression transitoire du gène GUS fut obtenue lorsque des feuilles détachées furent pré-cultivées sur un milieu contenant 10^{-5} M de thidiazuron et 10^{-1} M de 2, 3, 5-acide triodobenzoïque et enfin utilisées comme source de tissus cibles. En outre, l'efficacité du bombardement est dépendante de deux paramètres importants : la pression de l'hélium et la distance entre un porteur avec des particules d'or recouvertes d'ADN et le tissu de la feuille à bombarder. La méthode de bombardement par particules pour la délivrance du gène présente un potentiel pour la production de plants de mûrier transgéniques à partir de tissus de feuilles, étant donné que la régénération de plants à partir de tissus basaux de feuilles de mûrier a récemment été obtenue de manière efficace.*

INTRODUCTION

Le bombardement de particules offre une méthode rapide pour la délivrance de l'ADN dans des cellules de plantes pour l'étude de l'expression transitoire du gène et de la transformation stable. Le bénéfice principal de cette méthode est que des tissus intacts peuvent servir de cible. La plupart des études sur le bombardement par particules ont utilisé le même concept de base pour l'accélération et la délivrance des particules : une force fournie soit par une explosion, soit par une expansion de gaz comprimé, propulse un macroporteur de particules recouvertes d'ADN en direction d'un objet immobile (un écran d'arrêt ; un anneau muni d'un petit orifice en son centre) qui retient le macroporteur mais permet aux particules de passer. Dernièrement, un dispositif qui accélère les particules recouvertes d'ADN directement dans un courant d'hélium a été développé (Takeuchi et coll., 1992 ; Kim et Minamikawa, 1996) ; il se nomme le 'canon à flux de particules (PIG)' (Finc et coll., 1992). C'est un dispositif simple et peu onéreux pour la délivrance d'ADN à des cellules de plantes.

De récentes avancées en matière d'ingénierie génétique ont facilité la production de diverses biomolécules dans des transformants de récoltes annuelles. Le plant de mûrier, une nourriture ligneuse pour le ver à soie, est une espèce attrayante en tant que cible de 'fermage moléculaire' en raison de ses caractéristiques agronomiques : (1) un haut rendement de production de la biomasse foliaire, (2) une production durable des biomolécules visées pendant une longue période sans repiquage, (3) en

comparaison avec des récoltes annuelles, une résistance relativement élevée aux conditions atmosphériques et aux attaques de parasites, (4) un coût peu élevé pour la maintenance de la croissance. La production de clones de mûrier transgéniques pourrait fournir des alternatives efficaces aux systèmes microbiens et animaux pour la production de biomolécules. Notre récente étude démontra que l'organogenèse efficace des pousses fut obtenue à partir de tissus basaux de feuilles de pousses de mûrier et que des plantules entières furent produites à partir de pousses régénérées (Sugimura et coll., 1998, 1999; Adachi et coll., 1999). Cette constatation nous a encouragé à produire des plants de mûrier transgéniques à partir de tissus de feuille à l'aide du bombardement par particules, alors que l'expression transitoire du gène ne fut pas réussie lorsque le bombardement fut appliqué à des feuilles immatures provenant de bourgeons de mûrier hivernaux (Maehii et coll., 1996).

L'étude actuelle décrit l'expression transitoire du gène de la β -glucuronidase (GUS) introduit dans les cellules de feuilles de pousses de mûrier à l'aide du dispositif PIG, avec une attention particulière sur l'optimisation des paramètres de bombardement et sur la sélection des tissus cibles.

MATERIELS ET METHODES

Matériel végétal et plasmide :

Des graines de mûrier (*Morus alba* cv. Ichinose) ont été stérilisées dans une solution à 1 % d'hypochlorite de sodium. Après un lavage complet à l'eau stérile, elles ont été cultivées sur un milieu solide contenant 10^{-5} M de 6-benzylaminopurine sous un éclairage fluorescent avec des cycles de 12 h à 28° C (Sugimura et coll., 1998; 1999). Pour le bombardement, deux types d'échantillons de feuilles ont été préparés à partir des premières et deuxièmes feuilles entièrement développées et détachées 30 jours après l'ensemencement : (1) échantillon initial : sur la moitié de la masse des feuilles obtenues, des portions du tissu basal (5 mm^2) ont été excisées et utilisées immédiatement pour le bombardement de particules ; (2) échantillons de feuilles pré-cultivées : l'autre moitié des feuilles a été cultivée sur un milieu additionné de 10^{-5} M thidiazuron et 10^{-7} M 2, 3, 5-acide triiodobenzoïque pendant 10-15 jours. La taille des feuilles augmenta d'environ 3,5 fois en surface par rapport aux feuilles initiales pendant la pré-culture. Leurs tissus basaux (1 cm^2) comprenant la nervure médiane furent excisés pour le bombardement.

Le plasmide utilisé, pBI 221, contenait le gène chimérique codant pour la β -glucuronidase (GUS) sous le contrôle du promoteur 35 S du virus de la mosaïque du chou-fleur (Ca MV) (Jefferson et coll., 1998). *Escherichia coli* JM 109 a été transformée avec ce plasmide. L'isolement à grande échelle du plasmide à partir de *E. coli* fut réalisé en utilisant la méthode de lyse alcaline - SDS (Bimboim et Doly, 1979), puis sa séparation fut obtenue par deux passages sur un gradient de densité de chlorure de césium. Le plasmide purifié fut précipité par de l'éthanol puis dissous dans un tampon TE stérile (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) à 1,0 mg / ml.

Les particules d'or recouvertes d'ADN :

Les particules d'or (Aldrich Chem.) d'une taille moyenne de 2,0 μm furent recouvertes d'ADN plasmidien, ainsi que l'ont décrit Klein et coll. (1988). Des particules d'or (0,3 mg) ont été mises en suspension dans 50 μl d'eau. A la suspension de particules d'or, 10 μl de 1 μg d'ADN plasmide, 50 μl de CaCl_2 2,5 M et 20 μl de spermidine 0,1 M ont été rajoutés séquentiellement. Après l'avoir agitée vigoureusement, la suspension obtenue a été centrifugée afin de recueillir les particules recouvertes d'ADN, qui ont été lavées avec 70 % d'éthanol puis remises en suspension dans 50 μl d'éthanol absolu.

Le bombardement des particules :

Pour bombarder les particules, un dispositif PIG (Modèle GIE-III, Tanaka Co., Ltd., Japan) a été utilisé. Le système de base de cet appareil a été décrit par Takeuchi et coll. (1992). Afin d'étudier les facteurs physiques, deux paramètres importants ont été pris en compte : la pression de l'hélium et la

distance entre le porteur muni de particules et l'échantillon cible. D'autres paramètres ont été fixés comme suit : le temps de bombardement à 0,025 s et le vide dans la chambre à échantillon à 600 mmHg. Les échantillons de feuilles ont été placés sur du papier filtre, puis recouvert d'un tamis en acier inoxydable (4 x 4 mm) afin d'éviter que les fragments de feuilles utilisés comme tissus cibles ne soient déplacés par le jet d'hélium. La suspension de particules d'or recouvertes d'ADN (5 μ l), a été introduite dans le porteur de particules puis séchée à l'air. Des particules d'or (0,03 mg) recouvertes de 1,0 μ g d'ADN plasmidien ont été utilisées pour chaque bombardement.

Mesure de l'expression transitoire du gène GUS :

L'efficacité du bombardement a été évaluée par l'activité transitoire du gène GUS. Les tissus végétaux ont été colorés 2 jours après le bombardement selon la méthode décrite par Jefferson et coll. (1987). La solution de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (X-gluc) 1 mM dans un tampon à 50 mM de phosphate (pH 7,0) a été infiltrée sous vide dans les tissus de feuilles puis incubée pendant la nuit à 37° C. Les points bleus qui apparaissent furent comptés sous un microscope optique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Pour l'efficacité de la délivrance du gène GUS à l'aide du dispositif PIG, il est nécessaire d'optimiser deux paramètres physiques majeurs : la pression de l'hélium et la distance entre le porteur de particules et les tissus cibles. La combinaison de ces paramètres est exposée dans le Tableau 1. L'expression transitoire du gène GUS s'est manifestée visuellement sous forme de points bleus sur les tissus des feuilles bombardées (Fig.1). Après le bombardement, le nombre de points bleus a été compté pour les deux types d'échantillons de feuilles incubées pendant 2 jours. Quelle que soit la combinaison des deux paramètres, des taches bleues ont rarement été observées lors de l'utilisation d'échantillons de feuilles initiales. Par contre, le nombre de points augmenta de façon significative dans des tissus de feuilles pré-cultivés qui avaient été placés à 8,5 cm et 11,5 cm de distance du porteur de particules et qui avaient été bombardés à 6 kgf / cm² de pression à l'hélium (Exp. 1 du Tableau 1). Ce résultat fut confirmé par une expérience supplémentaire (Exp. 2 du Tableau 1), montrant que les points bleus apparaissaient uniformément à une distance allant de 8,5 cm à 11,5 cm. Une distance plus rapprochée du porteur ainsi qu'une pression plus importante de l'hélium se manifestent par des lésions brunâtres sur la totalité des tissus bombardés (Fig. 2). D'après les deux types d'expérience, la condition optimum de bombardement semble être de 6 kgf / cm² pour la pression et de 10,5 cm pour la distance. Sous ces conditions, la force de la pression *in situ* sur la surface du tissu cible se situait dans un intervalle de 18-19 gf / cm². Les points bleus étaient situés non seulement sur la couche mais aussi sur les veines et la nervure centrale (Fig. 1).

Différents facteurs affectant l'efficacité du bombardement furent considérés : les tissus cibles à bombarder ; les paramètres ainsi que les constructions plasmidiques. Machii et coll. (1996) rapportèrent que l'expression transitoire du gène GUS, transféré aux cellules de mûrier par bombardement était largement dépendante des tissus cibles utilisés : l'expression transitoire de GUS fut détectée seulement chez les cellules cultivées en suspension, mais fut absente chez les feuilles immatures des bourgeons d'hiver. Ces résultats indiquent que l'expression de GUS est variable chez les tissus cibles utilisés, ceci n'étant pas lié à l'action du promoteur 35 S du CaMV. La dépendance des tissus cibles est confirmée par l'étude présente. Les tissus pré-cultivés permirent d'obtenir l'expression du gène GUS, alors qu'aucun signe prometteur ne fut observé chez des tissus fraîchement récoltés. Le traitement en pré-culture aggrandit la taille de la feuille, ce qui suppose que l'expansion cellulaire prit place durant la période de pré-culture. Il est vraisemblable que la pénétrabilité des particules d'or recouvertes d'ADN à l'intérieur des cellules fut augmentée par la réduction de la rigidité de la paroi cellulaire en réponse à l'expansion cellulaire. En outre, les tissus pré-cultivés semblent être physiologiquement plus actifs, afin de soutenir l'expression du gène, par rapport aux tissus non-cultivés.

Bien que l'expression de GUS pouvait être détectée dans des tissus de feuilles pré-cultivés sous les conditions optimales décrites plus haut, l'efficacité du bombardement était relativement basse. Lorsque le même plasmide (pBI 221) fut administré à des cals de carotte et à des tissus de feuilles de patchouli à l'aide du dispositif PIG, une très grande efficacité fut obtenue (données non exposées). Les cellules en culture ont de fines parois cellulaires ce qui permet aux particules d'or recouvertes d'ADN plasmidique de pénétrer plus facilement à l'intérieur des cellules. En ce qui concerne les tissus de feuilles, le mûrier et les plantes herbacées peuvent être munis de structures de parois cellulaires et de cuticules différentes, ce qui semble être un facteur déterminant pour l'efficacité du bombardement. Il a été démontré que l'organogenèse efficace des pousses et la régénération des plantules furent induites à partir des tissus de feuilles de plantules de mûrier, plus particulièrement de ceux de la nervure centrale dans le tissu basal des feuilles (Sugimura et coll., 1998 ; 1999). Ce système de régénération de tissu-à-plantule est jugé utile pour la production de mûriers transgéniques obtenus par bombardement de particules. C'est pourquoi des échantillons cibles ont été préparés pour bombardement à partir de feuilles de pousses de mûrier, selon une procédure de culture à deux temps, décrite antérieurement (Sugimura et coll., 1998). Les échantillons de feuilles ainsi préparés ont maintenu une faculté organogène de la pousse dans la zone de la nervure centrale, même après avoir été pré-cultivés. L'expression transitoire réussie du gène GUS fut remarquée non seulement dans la lamina, mais aussi dans la zone de la nervure centrale (Fig1). Si un plasmide comportant un gène approprié pour la sélection est utilisé à la place de pBI 221, des clones de mûrier transgéniques peuvent être isolés de la nervure centrale après les procédures de bombardement et de sélection.

En conclusion, l'expression transitoire réussie du gène GUS fut obtenue par (1), l'utilisation de tissus de feuilles de pousses de mûrier pré-cultivés et (2), l'optimisation de deux paramètres de bombardements importants. Ces résultats sont susceptibles d'accélérer l'étude de la production de mûrier transgénique par le bombardement de particules.

VARIETAL DIFFERENCES ON KARYOMORPHOLOGY OF SOME POPULAR CULTIVARS IN MULBERRY (*MORUS* SPP.)

S.P. CHAKRABORTI, K. VIJAYAN, S.G. DOSS, B.N. ROY & S.M.H. QADRI

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

Karyotype analysis, along with leaf morphology and yield of six cultivars of mulberry has been done. On the basis of the centromere position chromosomes have been grouped into five types. Chromosome types varied among the cultivars. Nucleolar chromosomes are present in three cultivars. Variation in nucleolar chromosomes has also been observed. Significant variation in genomic length and volume is present among the cultivars. A close relationship between karyotype and leaf morphology has been found among the cultivars. The cytological identity of each cultivar has been distinctly manifested phenotypically irrespective of their origin. A critical analysis of the karyotype with morphological study has been found as an appropriate method for taxonomical grouping in mulberry.

Keywords: Mulberry, karyotype, leaf morphology.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus* spp.) is a highly heterozygous perennial tree belonging to the family Moraceae and is economically very important for its foliage which is the sole food for the silkworm *Bombyx mori* L. Due to a high heterozygosity the genomic account of the genus has become an enigma. A few reports are available on the chromosome number of different species of this genus (Tahara, 1909, Sinoto 1929, Janaki Amal 1948, Katsumata 1979). Meiotic behaviour in some cultivars has been reported by Datta (1954), Seki (1952), Das (1961), Gill and Gupta (1978). However, information on karyomorphology of the species of the genus *Morus* is far from being adequate. The classification and bringing out of the interrelationship among the population of such a taxa are rather difficult where even the expression of sex is not a stable trait. Kundu and Sharma (1976) have studied the karyomorphology of two Indian cultivars. Dandin *et al.*, (1987) reported karyomorphological details of some evolved cultivars. Susheelamma *et al.*, (1990) have studied the karyomorphology of certain exotic cultivars and have mentioned its importance to understand the phylogenetic relationship and taxonomic grouping among the cultivars of different species. In this study an attempt has been made to elucidate the karyomorphological details of some evolved cultivars and to find out the interrelationship among the cultivars which have originated from different parents as well as the cultivars evolved from the same parent. As the cultivars are morphologically different, especially in leaf characters and yield, another object of the study is, therefore, to see whether there is any interrelationship among leaf yield, yield attributing characters and karyotypes at the cultivar level.

MATERIALS AND METHODS

Six popular mulberry cultivars i.e. S1 (*M. alba*), S799 (*M. indica*), C763 (*M. multicaulis* × *M. alba*), C776 (*M. multicaulis* × *M. alba*), BC259 (*M. indica* × *M. latifolia*) and one local cultivar (*M. indica*) were considered for the study. The details of the cultivars are given in Table I. Somatic

chromosomes were studied from excised shoot tips. Well scattered metaphase plates were obtained by pretreating the shoot tips with saturated solution of para-dichlorobenzene (PDB) at 12 °C for 4 hours followed by overnight fixation in 1:3 propiono-ethanol mixture. Staining was done in 2% propiono-orcein and 1 N HCl mixture (9:1) for overnight.

Squash preparations were made in 45% propionic acid. Photomicrograph and camera lucida drawings were taken from temporary slides. To ascertain the chromosome number and their morphology, a number of well scattered plates were compared in each cultivar. The arm ratio and centromeric index (F %) were calculated according to Battaglia (1955). In the idiogram the chromosomes were arranged according to the type and under each type, the chromosomes were arranged in decreasing value of length. Individual chromosome volume was calculated by the formula $\pi r^2 h$ where r is the radius and h is the length of the chromosome. The total chromosome length and volume were compared by adding the individual length and volume respectively.

Different morphological characters were recorded from the 2 years old mature plants. Leaf characters were studied from fully expanded 5th leaf of 90 days old shoot.

Leaf yield was recorded from a yield trial experiment. Annual leaf yield was taken from four different seasonal harvests. Analysis of variance (ANOVA) at the cultivar level was calculated.

RESULTS

Distinct morphological variations were observed among all the 6 cultivars. In leaf characters, the shape of the leaf and the texture in particular varied from cultivar to cultivar. Leaves were entire in S1, S799, C763, C776 and BC259 and incised in local cultivar (Table I). Differences among cultivars were also recorded in quantitative traits as well as in foliage production (Table II). All the six cultivars were diploid having a somatic chromosome number $n = 28$ (Fig.1, 2). In karyotype the chromosomes in general were very small and the length ranged from 1.17 to 5.23 μm . All the chromosomes were divided into 5 types of which 2 types were designated as the nucleolar chromosomes (Table II, Fig. 3).

Type A: Chromosomes with submedian constriction having centromeric index ranged from 28.56-44.43%. Length of the chromosomes varied from 1.17 - 5.23 μm .

Type B: Chromosomes with median constrictions having centromeric index was at 50%. Chromosome length ranged from 1.29-3.94 μm .

Type C: Chromosomes with subterminal constrictions having a centromeric index ranged from 19.55-24.98%. Chromosome length varied from 1.29-3.94 μm .

Type D: Nucleolar chromosomes with subterminal and submedian constrictions. Centromeric index was 16.55% for subterminal and 33.33% for submedian constriction. Chromosome length varied from 1.5-1.7 μm .

Type D': Nucleolar chromosomes with subterminal constrictions and the centromeric index was 19.97%. Length of the chromosome was 1.9 μm .

Clear numerical and structural variations of centromeric chromosomes were observed among all the cultivars studied (Fig. 3). Chromosomes 'A', 'B' and 'C' types were present in all the 6 cultivars but the number and size of chromosomes in each type were different from cultivar to cultivar irrespective of their origin. Most of the chromosomes were 'C' type in all the cultivars except Local where both 'A' and 'B' type chromosomes were higher in number than any other cultivars. Type 'A' chromosomes were more in number in S1, BC259 and local as compared to others. All the six cultivars showed very distinct leaf greenness and waxy cuticle (Table I). The glossiness due to waxy cuticularization was observed on the leaf. Nucleolar chromosomes were present in S799, C763 and C776. In C776 the nucleolar chromosome (Type 'D') was quite different from C763 as well as S799 (Fig 3).

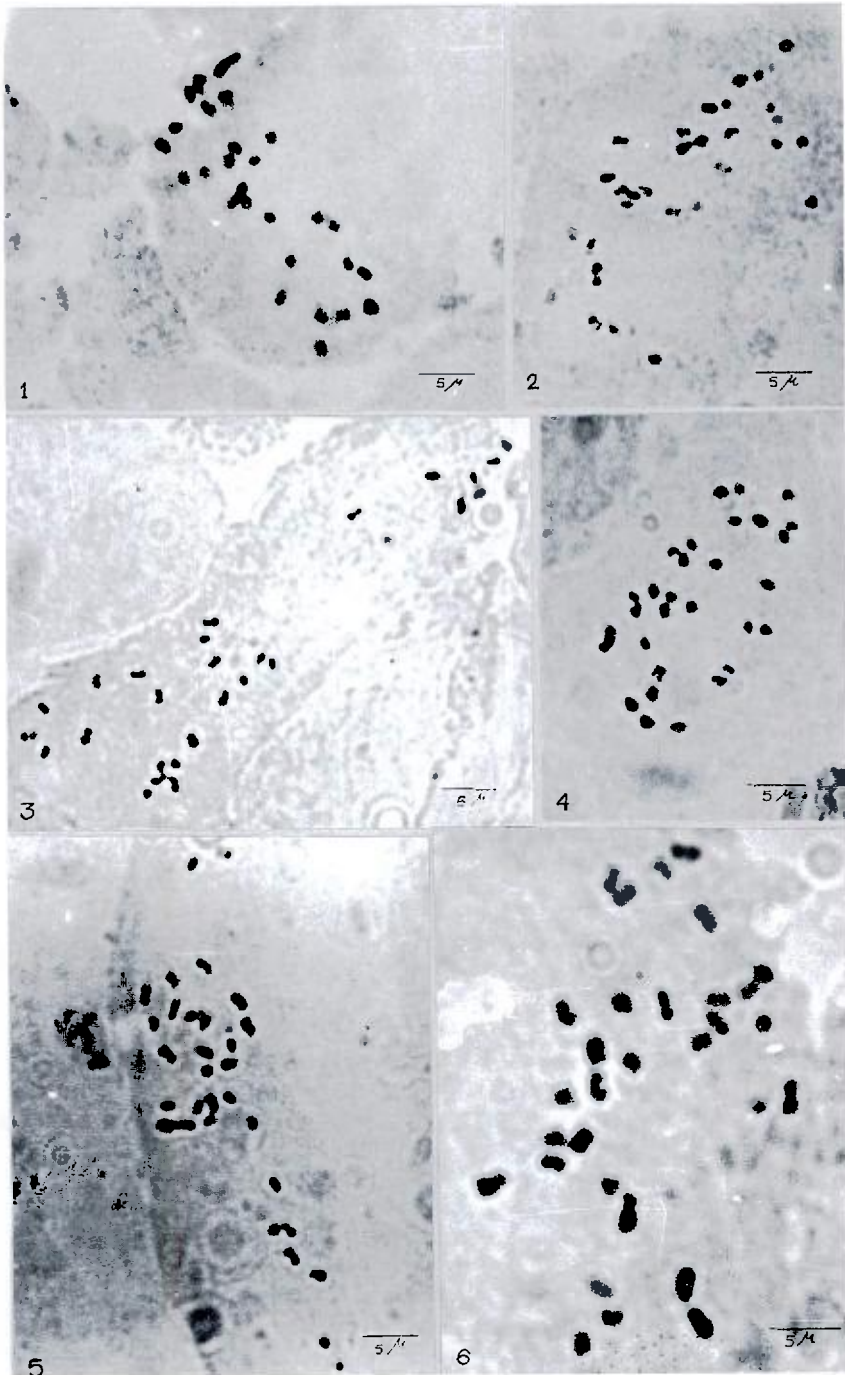


Fig. 1. Photomicrographs showing somatic chromosomes of 6 mulberry cultivars. 1. S1, 2. S799, 3. C763, 4. BC259, 5. C776, 6. Local.

Fig. 1. Photomicrographes montrant les chromosomes somatiques de 6 cultivars de mûrier. 1. S1, 2. S799, 3. C763, 4. BC259, 5. C776, 6. Local.



Fig. 2. Camera lucida drawings of somatic chromosomes of 6 mulberry cultivars. 7. S1, 8. S799, 9. C763, 10. BC259, 11. C776, 12. Local.

Fig. 2. Dessins des chromosomes somatiques de 6 cultivars de mûrier. 7. S1, 8. S799, 9. C763, 10. BC259, 11. C776. 12. Local.

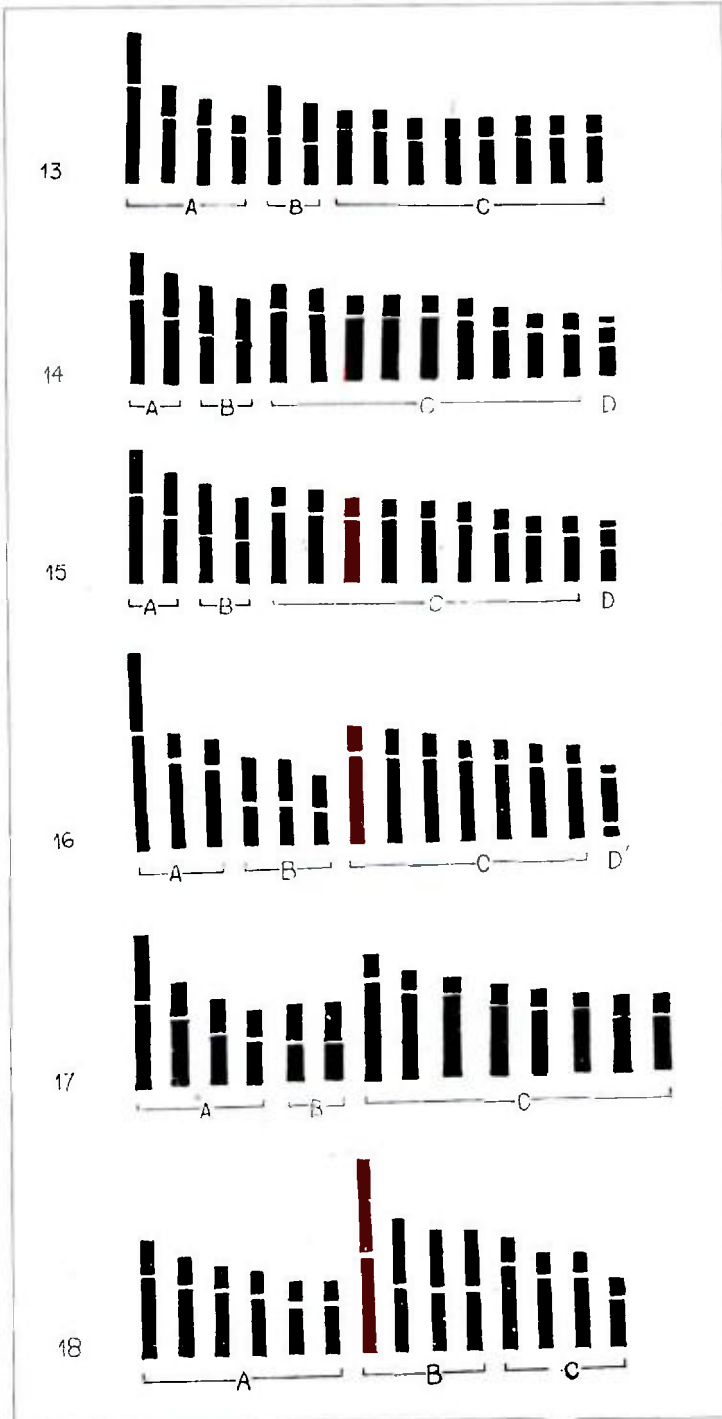


Fig. 3. Idiograms of 6 mulberry cultivars. 13. S1, 14. S799, 15. C763, 16. C776, 17. BC259, 18. Local

Fig. 3. Idiogrammes de 6 cultivars de mûrier. 13. S1, 14. S799, 15. C763, 16. C776, 17. BC259, 18. Local.

Table I. Morphological characters of 6 cultivars in mulberry.

Tableau I. Caractères morphologiques de 6 cultivars de mûrier.

Cultivars	Sex <i>Sexe</i>	Ploidy <i>Ploïdie</i>	Leaf shape <i>Forme de la feuille</i>	Texture	Leaf colour <i>Couleur de la feuille</i>
S1	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i> (2n = 28)	Ovate <i>Ovée</i>	Smooth, flat <i>Lisse, plate</i>	Glossy dark green <i>Vert foncé brillant</i>
S799	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i>	Cordate <i>Cordiforme</i>	Rough, wavy <i>Rugueuse, ondulée</i>	Pale green <i>Vert pâle</i>
C763	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i>	Elliptical <i>Elliptique</i>	Smooth, flat <i>Lisse, plate</i>	Pale green <i>Vert pâle</i>
C776	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i>	Elliptical <i>Elliptique</i>	Rough, flat <i>Rugueuse, plate</i>	Dark green <i>Vert foncé</i>
BC259	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i>	Cordate <i>Cordiforme</i>	Smooth, flat <i>Lisse, plate</i>	Glossy, dark green <i>Vert foncé brillant</i>
Local	Monoecious <i>Monoïque</i>	Diploid <i>Diploïde</i>	Incised <i>Incisée</i>	Smooth, flat <i>Lisse, plate</i>	Glossy, medium green <i>Vert moyen brillant</i>

Table II. Karyological characteristics of 6 cultivars in mulberry.

Tableau II. Caractéristiques caryologiques de 6 cultivars de mûrier.

Cultivars	Range of chromosome length (µm)	Range of centromeric index	Arms ratio	TF %	No. of nucleolar chromosome	Karyotype formula
<i>Cultivars</i>	<i>Fourchette de longueur du chromosome (µm)</i>	<i>Fourchette de l'indice centromérique (F%)</i>	<i>Rapport de bras</i>	<i>% TF</i>	<i>Nbre de chromosomes nucléolaires</i>	<i>Formule du caryotype</i>
S1	1.52 - 3.88	24.94-50.00	2.21	31.14	-	A8 B4 C16
S799	1.47 - 3.28	16.47 - 50.00	2.00	33.32	1	A4 B4 C18 D2
C763	1.29 - 3.18	16.66 - 50.00	2.63	27.51	1	A4 B4 C18 D2
C776	1.29 - 5.23	19.97-50.00	2.12	32.04	1	A6 B6 C14 D2
BC259	1.17 - 3.11	24.98 - 50.00	2.15	31.73	-	A8 B4 C16
Local	1.23 - 5.04	24.88 - 50.00	2.83	35.23	-	A12 B8 C8

Table III. Comparative account of total genomic length, volume, yield components and leaf yield of different cultivars in mulberry.

Tableau III. Comparaison de la longueur et du volume génomiques totaux avec les composants de rendement et le rendement en feuilles de différents cultivars de mûrier.

Cultivars	Total genomic length (μm)	Total genomic volume (μm^3)	Plant height (cm)	No. of branches per plant	Leaf yield kg/ha/yr
<i>Cultivars</i>	<i>Longueur génomique totale (μm)</i>	<i>Volume génomique total (μm^3)</i>	<i>Hauteur du plant (cm)</i>	<i>Nbre de branches par plant</i>	<i>Rendement en feuilles kg/ha/an</i>
S1	22.19	9.53	113.33	5.83	33005.52
S799	23.07	12.51	91.17	11.67	22944.33
C763	21.62	9.31	90.83	7.00	24344.67
C776	25.41	11.81	125.33	8.50	33166.33
BC259	20.24	10.18	99.33	7.31	24047.00
Local	24.56	15.31	102.00	5.67	16283.33
CD at 1%	0.241	0.205	2.882	0.651	1488.926

In leaf shape clear varietal differences were recorded among the six cultivars. But such variation did not indicate any correlation with karyotypes.

The overall observation revealed asymmetric karyotypes in all the cultivars as reflected in total F% (Fig. 2). Though the chromosome number was the same in all the cultivars, the absolute length and volume of total genomic constituents differed within the cultivars (Table III).

The other morphometric characters of different cultivars also varied significantly from each other. The highest length of shoot (125.53 cm) was recorded in C776 while the same was lowest in C763 (90.83 cm). Both the plants differed from each other in tillering and leaf yield (Table III). Out of the six cultivars the local cultivar was the lowest yielder (16283.33 kg/ha/yr) and was different from all the cultivars.

DISCUSSION

The overall study reveals a number of important findings. Although the chromosome number is the same, the karyotype analysis shows clear differences among the cultivars. Variation is also observed on the number of chromosome types and in the nucleolar chromosomes (Fig. 3). Levan *et al.*, (1964) reported that the location of centromere in the chromosome determines types and is constant for each genotype. This is one of the important reasons for variations in the centromeric index of the

chromosomes and which results in the formation of different chromosome types among the cultivars. Total F% and arm ratio proves asymmetry in all karyotypes studied (Table II). Morphological and cytological distinction has been reflected irrespective of the origin. This has also been indicated by the earlier authors (Kundu and Sharma 1976, Susheelama *et al.*, 1990).

Despite the common origin, C763 and C776 have shown a minute difference in chromosome types which arises due to the changes in position of the nucleolar part of the chromosome.

With a view to evaluating the cytological parameters in respect of characters of the cultivars, the glossiness particularly waxy cuticularization and greenness of leaf possibly bears a relationship with 'A' type chromosomes. 'A' type chromosomes are more in S1, BC₂59 and local. The leaves of C776 are also dark green, where the number of 'A' type chromosomes are nearer to S1 and BC₂59.

Characters like yield components and leaf yield also significantly vary among the six cultivars. S1 and C776 are highest yielders in the group and have maximum shoot length. Local cultivar is a low yielder due to leaf lobation and less tillering. The other cultivars have average yield potential.

From the study it is clear that certain phenotypic characters which have been expressed in the cultivar are due to the presence of some particular chromosome types. Therefore, in mulberry, where the morphological characters alone are not helpful in taxonomic grouping of different species as well as cultivars, a critical analysis of karyotypes appears to be very much helpful to make out the proper taxonomy of such a complicated taxa.

REFERENCES

- BATTAGLIA E. (1955) Chromosome morphology and terminology. *Caryologia* 8, 179-187.
- DATTA M. (1954) Cytogenetical studies in the species of *Morus*. *Cytologia*, 19, 86-95.
- DAS B.C. (1961) Cytological studies in *Morus indica* L. and *Morus levigata* Wall. *Caryologia*, 14, 159-162.
- DANDIN S.B., SUSHEELAMMA B.N., JOLLY M.S., MALLIKARJUNAPPA R.S., GIRIDHAR K. (1987) Karyomorphological studies in a few varieties of mulberry (*Morus* spp.). *Indian J. Seric.*, 26, 22-31.
- GILL B.S., GUPTA R.C. (1978) Cytological studies in the sex types of *Morus alba* L., Moraceae. *Current Science*, 48, 35-36.
- JANAKI AMMAL E.K. (1948) The origin of black mulberry. *J. Roy Hort. Sci.*, 73, 117-120.
- KATSUMATA F. (1979) Chromosome of *Morus nigra* L. from Java and a hybridisation affinity between this species and some mulberry species in Japan. *J. Seric. Sci. Japan*, 418-422.
- KUNDU D., SHARMA A. (1976) Chromosome studies in some Indian Moraceae. In *Recent Advances in Botany*, Edited by P. Kuchroo, Bishen Singh and Mahendrapal Singh, Dehradun, India, pp. 348-365.
- LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A.A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
- SEKI H. (1952) Cytological studies on Moraceae (3). The triploid races. *J. Seric. Sci. Japan*, 21, 211-214.
- SINOTO Y. (1929) Chromosome studies in some dioecious plants with special reference to allosomes. *Cytologia*, 1, 109-144.
- SUSHEELAMMA B.N., JALAJA S. KUMAR, DANDIN S.B., JOLLY L.S., SENGUPTA K., RAJU R. (1990) Karyomorphological studies in a few exotic varieties of genus *Morus* L. *Cytologia*, 55, 107-144.
- TAHARA M. (1909) On the chromosome of *Morus alba* (P.N.) *Bot. Mag. Tokyo*, 23, 343-353.

DIFFERENCES VARIETALES DE LA CARYOMORPHOLOGIE CHEZ QUELQUES CULTIVARS COMMUNS DU MURIER (*MORUS* SPP.)

S.P. CHAKRABORTI, K. VIJAYAN, S.G. DOSS, B.N. ROY & S.M.H. QADRI

Institut Central de Recherche et d'Expérimentation, Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

Une analyse de caryotypes ainsi que de la morphologie de la feuille et du rendement de six cultivars de mûrier a été réalisée. Sur la base de la position du centromère, les chromosomes ont été regroupés en cinq types différents. Les types de chromosomes varient en fonction des différents cultivars. Des chromosomes nucléolaires sont présents dans trois sortes de cultivars. Une variation chez les chromosomes nucléolaires a été aussi observée. Une variation significative dans la longueur et le volume génomique est présente parmi les cultivars. Nous avons constaté une étroite relation entre le caryotype et la morphologie de la feuille parmi les cultivars. L'identité cytologique de chaque cultivar s'est distinctement manifestée sur le plan phénotypique. Une analyse critique du caryotype accompagnée d'une étude morphologique a été considérée comme méthode adéquate pour la classification taxonomique chez le mûrier.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus* spp.) qui est un arbre hautement hétérozygote et qui appartient à la famille des Moraceae, est, économiquement parlant, très important pour son feuillage qui est la nourriture essentielle du ver à soie, *Bombyx mori* L. En raison de sa grande hétérozygotie, le compte génomique de cette espèce est resté une énigme. Quelques données sur le nombre des chromosomes des différentes espèces de ce genre sont disponibles (Tahara 1909, Sinoto 1929, Janaki Amal 1948, Katsumata 1979). Le comportement méiotique de certains cultivars a été étudié par Datta (1954), Seki (1952), Das (1961), Gill et Gupta (1978). Cependant, les informations concernant la caryomorphologie des espèces du genre *Morus* sont loin d'être suffisantes. La classification et les relations parmi la population de telles unités taxonomiques sont assez difficiles, là où même le sexe n'est pas un caractère stable. Kundu et Sharma (1976) ont étudié la caryomorphologie de deux cultivars indiens. Dandin et coll. (1987) ont noté des détails caryomorphologiques de certains cultivars évolués. Susheelamma et coll. (1990) ont étudié la caryomorphologie de certains cultivars exotiques et a souligné son importance pour la compréhension de la relation phylogénétique et le groupement taxonomique parmi les cultivars de différentes espèces. Nous avons tenté d'élucider les détails caryotypiques de certains cultivars évolués et de trouver une interrelation parmi les cultivars nés de parents différents ainsi que des cultivars évolués nés de parents identiques. Comme les cultivars sont morphologiquement différents (plus particulièrement en ce qui concerne les caractéristiques de la feuille et le rendement), un autre sujet d'étude est de rechercher s'il existe éventuellement une interrelation entre le rendement en feuilles et les caryotypes au niveau des cultivars.

MATERIELS ET METHODES

Six cultivars de mûriers communs i.e. S1 (*M. alba*), S799 (*M. indica*), C763 (*M. multicaulis* × *M. alba*), C776 (*M. multicaulis* × *M. alba*), BC₂ 59 (*M. latifolia*) et un cultivar local (*M. indica*) ont été choisis pour cette étude. Les détails concernant les cultivars sont donnés dans le Tableau I.

Des chromosomes somatiques ont été étudiés à partir de extrémités de pousses. Des plaques de métaphases bien réparties ont été obtenues en pré-traitant les sommets de pousses avec une solution saturée en para-dichlorobenzène (PDB) à 12°C pendant quatre heures ; cela a été suivi d'une fixation dans un mélange de 1,3 propino-ethynol pendant une nuit. La coloration a été réalisée dans un mélange de 2 % de propiono-orcéine et 1N HCl (9:1) durant une nuit.

Des préparations écrasées ont été préparées dans 45% d'acide propionique. Les photomicrographies et les dessins de la chambre claire ont été réalisés à partir de diapositives. Pour vérifier le nombre de chromosomes et leurs morphologies, nous avons comparé un certain nombre de plaques pour chaque cultivars. Le ratio bras et l'indice centrométrique (F %) ont été calculés selon la méthode de Battaglia (1955). Dans l'idiogramme, les chromosomes ont été rangés selon leur type et dans chacun des types, les chromosomes ont été rangés dans un ordre de longueur décroissant. Le volume d'un chromosome a été calculé selon la formule $\pi r^2 h$, r étant le rayon et h , la longueur du chromosome. La longueur et le volume totale des chromosomes ont été comparés en additionnant respectivement la longueur et le volume de tous les chromosomes.

Des caractéristiques morphologiques différentes ont été remarquées à partir de plants âgés de deux ans. Les caractéristiques de la feuille ont été enregistrées à partir de la cinquième feuille pleinement développée d'une pousse de 90 jours.

Le rendement en feuille a été noté à partir d'une expérience d'essai de rendement. Le rendement annuel des récoltes de feuilles lors de quatre saisons différentes a été noté. Nous avons effectué une analyse de variances (ANOVA) au niveau des cultivars.

RESULTATS

Des variations morphologiques distinctes ont été observées parmi les six cultivars. En ce qui concerne les caractéristiques de la feuille, la forme et la texture de celle-ci varient d'un cultivar à l'autre. Les feuilles sont entières pour les variétés S1, S799, C763, C776, et BC259 ; pour les cultivars locaux, elles étaient découpées (Tableau I). Nous avons noté des différences en ce qui concerne les caractéristiques quantitatives ainsi que dans la production de feuillage chez les cultivars (Tableau II). Les six cultivars sont des diploïdes possédant un nombre somatique de chromosomes $n = 28$ (Fig. 1, 2). Dans les caryotypes, les chromosomes sont, en général très petits et la longueur se situe entre 1,17 et 5,23 μm . Tous les chromosomes ont été classés en cinq types dont deux ont été désignés comme des chromosomes nucléolaires (Tableau II, Fig. 3).

Type A : Les chromosomes possédant une constriction submédiane possédant un indice centrométrique qui varie entre 28,56 et 44,43 %. La longueur des chromosomes varie entre 1,17 et 5,23 μm .

Type B : Les chromosomes avec des constriction médianes possèdent un indice centrométrique à 50 %. La longueur du chromosome varie entre 1,29 et 3,94 μm .

Type C : Les chromosomes avec des constriction subterminales ayant un indice centromérique qui varie entre 19,55 et 24,98 %. La longueur se situe entre 1,29 et 3,94 μm .

Type D : Chromosomes nucléolaires avec des constriction subterminales et submédianes possédant un indice centrométrique de 16,55 % pour les constriction subterminales et 33,33 % pour les constriction submédianes. La longueur des chromosomes varie de 1,5 à 1,7 μm .

Type D' : Chromosomes nucléolaires avec des constriction subterminales et un indice centrométrique de 19,97 %. La longueur du chromosome est de 1,9 μm .

Les variations numériques et structurelles des chromosomes centrométriques ont été observées parmi tous les cultivars étudiés (Fig. 3). Les chromosomes du type A, B et C étaient présents dans les 6 cultivars mais le nombre et la taille des chromosomes, pour chaque type, étaient différents d'un cultivar à l'autre. La plupart des chromosomes étaient de type C dans tous les cultivars excepté pour les locaux où les chromosomes de types A et B étaient plus nombreux que dans aucun autre cultivar. Les chromosomes de type A étaient plus nombreux dans les cultivars S1, BC₂59 et les cultivars locaux, comparativement aux autres. Les six cultivars avaient des feuilles différentes quant à la couleur et à la cuticule (Tableau I). Nous avons observé sur la feuille un lustre dû à sa cuticularisation cireuse. Des chromosomes nucléolaires étaient présents dans les cultivars S799, C763 et le C776. Chez le cultivar C776, le chromosome nucléolaire (type D) était complètement différent du cultivar C 763 ainsi que de S799 (Fig. 3).

Des différences dans la forme de la feuille ont été remarquées parmi les six cultivars. Cependant, de telles variations n'indiquent pas quelque corrélation que ce soit avec les caryotypes.

L'observation a révélé des caryotypes asymétriques chez tous les cultivars comme nous pouvons le constater dans le F % total (Fig. 2). Ainsi, le nombre de chromosomes est le même pour tous les cultivars, la longueur absolue et le volume des constituants génomiques totaux n'étaient pas les mêmes chez tous les cultivars (Tableau III).

Les autres caractéristiques morphométriques des différents cultivars varient aussi des uns aux autres. Nous avons noté la plus longue pousse (125,53 cm) chez le cultivar C776, tandis que pour le C763, elle ne faisait que 90,83 cm. Les deux plants se différencient l'un de l'autre par le tallage et la production de feuilles (Tableau III). Parmi les six cultivars, le local était celui qui produit le moins (16 283,33 kg/ha/an) et est différent de tous les autres cultivars.

DISCUSSION

L'étude globale révèle un certain nombre de découvertes importantes. Bien que le nombre de chromosomes soit le même, l'analyse des caryotypes montre de nettes différences parmi les cultivars. Nous avons observé une variation du nombre des types de chromosomes et des chromosomes nucléolaires (Fig. 3). Levan et coll. (1964), ont noté que la position des centromères dans les chromosomes détermine les types et est constante pour chaque génotypes. C'est une des raisons importantes qui cause les variations de l'indice centrométrique des chromosomes qui résulte de la formation de différents types de chromosomes parmi les cultivars. Le F % total et le ratio bras montrent une asymétrie dans tous les caryotypes étudiés (Tableau II). Des distinctions morphologiques et cytologiques sont apparues. Cela a déjà été constaté par d'autres auteurs (Kundu and Sharma 1976, Susheelama et coll., 1990).

Malgré leurs origines communes, le C763 et le C776 ont montré une faible différence dans les types de chromosomes qui apparaissent à cause des changements dans la position de la partie nucléolaire du chromosome.

En vue d'évaluer les paramètres cytologiques par rapport aux caractéristiques des cultivars, la cuticularisation au vernis particulièrement cireux et la verdure de la feuille suggèrent une relation possible avec des chromosomes de type 'A'. Les chromosomes de type 'A' sont plus nombreux chez les cultivars S1, BC₂59 et les locales. Les feuilles des C776 sont vert foncé, alors que le nombre de chromosomes de type 'A' est plus proche de S1 et BC₂59.

Les caractéristiques comme les composants du rendement et le rendement en feuilles varient d'une manière significative parmi les six cultivars. Les cultivars S1 et C776 ont le rendement le plus élevé dans le groupe et possèdent une longueur de pousses maximales. Le cultivar local est un petit

producteur en raison de la lobation des feuilles et d'un moindre tallage. Les autres cultivars ont un potentiel de production moyen.

A partir de cette étude, il est clair que certaines caractéristiques phénotypiques qui ont été noté chez les cultivars sont dues à la présence de certains types de chromosomes particuliers. Donc, chez le mûrier, là où seules les caractéristiques morphologiques ne sont d'aucune aide dans la classification taxonomique des différentes espèces ainsi que des cultivars, une analyse des caryotypes semble être plus appropriée pour définir la classification de ces unités taxonomiques complexes.

INFLUENCE OF MULBERRY LEAF NUTRITION AND BmCPV INFECTION ON DISEASE DEVELOPMENT AND SOME COCOON TRAITS IN *BOMBYX MORI* L.

R.N. BHASKAR¹, R. GOVINDAN, M.C. DEVAIAH & D. RADHAKRISHNA²

1. Department of Sericulture.

2. Department of Agricultural Microbiology, U.A.S., G.K.V.K., Bangalore - 560 065, India.

*The influence of providing mulberry leaves with varied amounts of nitrogen, phosphorus and potash to III and IV instar larvae of the silkworm **Bombyx mori** L. inoculated with BmCPV has been studied on the disease development and on some cocoons traits in survivors. The BmCPV inoculated larvae fed with leaves containing more nitrogen registered a shorter ET50 value for disease symptoms and mortality. The inoculated worms fed with leaves having more potash yielded longer ET50 value for symptom manifestation and larval mortality. The larvae reared on leaves with more nitrogen resulted in a higher cocoon weight among healthy batches.*

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, BmCPV, mulberry leaf nutrients.

INTRODUCTION

Silkworm cocoon crops are highly unpredictable due to several factors. Cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV) of *Bombyx mori* L. is one of the most widely distributed viruses in the sericulture belts of Karnataka with an incidence of 27.76 per cent causing considerable damage to silk production (Sanson *et al.*, 1990).

The diseased silkworms exhibit symptoms of reduced food consumption, stunted growth, dull whitish colour and flaccid body. The important factors influencing the outbreak of this disease are the inferior quality of the mulberry leaf, i.e. extremely hard or soft leaves and leaves stored for a long time, high temperature and fluctuations in temperature and humidity (Aruga, 1962). As the perusal of literature revealed no information on the influence of the nutritional status of the mulberry leaf on the development of cytoplasmic polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori*, a study was carried out in this line and the results are reported in this paper.

MATERIALS AND METHODS

Mulberry (M5) was grown separately under different doses of NPK (Table I). Leaf samples collected at 45 days post-application were analysed with different treatments in NPK contents as per routine standard methods. The leaves harvested from each plot separately were used in silkworm rearing starting from brushing till spinning.

Infection technique:

The BmCPV polyhedral inclusion bodies (PIBs) recovered from whitened midguts of experimentally inoculated silkworm larvae were concentrated by repeated centrifugation at 5000 rpm for 10 minutes to a whitish pellet (Aizawa, 1971). The resultant pellet was suspended in distilled water

to get the stock suspension from which a suspension containing 1.6×10^7 PIBs per ml was prepared and inoculated to experimented lots of silkworm.

The III and IV instar silkworms were separately inoculated and reared. Uninoculated batches were also maintained for the study. The inoculated and uninoculated batches were reared separately to know the build up of the disease. Observations were recorded on symptom manifestation, larval mortality, load of PIBs per ml of midgut extract, size of PIBs, cocoon and shell weights.

RESULTS AND DISCUSSION

The nutritional status of mulberry leaf fed to silkworm largely influences the growth and development. Silkworms fed with optimum nutritious leaves to fulfill the nutritional requirements of the larvae both qualitatively and quantitatively also reflects on the extent of their susceptibility to infectious diseases. In other words, the malnutrition serves as a predisposing factor in disease epizootic. Hence, the three major nutrients, i.e. N, P and K were applied to the mulberry garden in varied proportions and the leaf raised was separately utilised to rear silkworms from brushing to spinning. The results are presented below.

Table I. Nitrogen, phosphorus and potassium contents of mulberry leaf as influenced by the dosages of N:P:K fertilisers applied to the mulberry garden.

Tableau I. Teneurs en azote, en phosphore et potassium de la feuille de mûrier sous l'influence des dosages d'engrais N:P:K appliqués dans la mûraie.

Quantity of N:P:K applied to mulberry (kg/hectare/year)	Nutrient contents in mulberry leaf (%)		
	Nitrogen	Phosphorus	Potassium
<i>Quantité de N:P:K administrée au mûrier (kg/hectare/an)</i>	<i>Teneur en nutriment dans la feuille de mûrier (%)</i>		
	<i>Azote</i>	<i>Phosphore</i>	<i>Potassium</i>
280:120:120	1.17	0.50	0.96
240:120:120	0.46	0.40	0.94
200:120:120	0.36	0.40	0.67
280:140:120	0.66	0.40	0.80
280:80:120	0.79	0.25	0.80
280:120:140	1.03	0.40	0.86
280:120:80	1.00	0.40	0.90
0: 0: 0	0.50	0.20	0.43

Mature larval weight:

The mature larval weight was maximum (22.72 g / 10 larvae) when fed with high 'N' containing leaf (1.17%) and lower (14.99 / 10 g) with less 'N' containing (0.5%). The less nitrogen content in leaf significantly reduced the mature larval weight (Table II) and this is in agreement with Shyamala (1953) who observed that the application of nitrogen in the form of ammonium salts either fed directly or through transpired mulberry leaves resulted in a slight increase in the growth of silkworm. Further, Narayanan *et al.*, (1966) reported that an increased level of nitrogen up to 150 kg per hectare per year to a mulberry garden increased the full grown larval weight.

Table II. Effect of varied NPK contents of mulberry leaf and BmCPV inoculation in silkworm on mature larval weight (g/10 larvae).

Tableau II. Effet de teneurs variées en NPK dans la feuille de mûrier et de l'inoculation par le BmCPV sur le poids larvaire mature (g/10 larves) chez le ver à soie.

N P K contents (%)	N.P.K. × Instar		N.P.K. × CPV inoculation		N.P.K. × Instar × CPV inoculation				
	Direct effect	III instar	IV instar	Healthy	Inoculated	III instar		IV instar	
						Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated
		N.P.K. × Age		N.P.K. × inoculation CPV		N.P.K. × Age × inoculation		CPV	
Teneur en N.P.K (%)	Effet direct	Age III	Age IV	Sain	Inoculé	3ème age		4ème âge	
						Sain	Inoculé	Sain	Inoculé
1.17:0.50:0.96	22.72	23.56	21.88	26.06	19.38	27.45	19.67	24.68	19.08
0.46:0.40:0.94	20.30	20.27	19.85	24.25	16.37	24.93	16.60	23.56	16.13
0.36:0.40:0.67	19.79	20.16	19.13	23.93	15.65	24.92	15.39	22.95	15.90
0.66:0.40:0.80	18.62	18.82	18.43	22.93	14.32	23.46	14.18	22.39	14.47
0.79:0.25:0.80	17.69	17.51	17.88	21.35	14.04	21.28	13.74	21.43	14.33
1.03:0.40:0.86	16.53	16.54	16.53	19.72	13.35	19.87	13.19	19.51	13.49
1.00:0.40:0.90	16.05	16.36	15.75	19.89	12.21	20.84	11.87	18.95	12.55
0.50:0.20:0.43	14.99	14.55	15.45	18.68	11.31	18.68	10.41	18.67	12.22
Sem±	0.28	0.20		0.20		0.28			
C D at 5%	0.80	0.56		0.56		0.80			

ET₅₀ for symptom manifestation and mortality:

The ET₅₀ for symptom expression and mortality also exhibited some significance. With the third instar the infection ET₅₀ value was 22.33 days and in IV instar the same was 23.17 days. ET₅₀ for mortality was 23.17, 22.83, 21.17, 19.83, 17.83, 15.33, 14.33 and 13.00 days in respect of worms fed with leaves containing 1.17:0.5:0.96, 0.46:0.40:0.94, 0.36:0.40:0.67, 0.66:0.40:0.80, 0.79:0.25:0.80, 1.03:0.40:0.86, 1.00:0.40:0.90 and 0.50:0.20:0.43 per cent NPK, respectively. As the 'K' content of the leaf increased, there was an increase in the ET₅₀ value for both symptom manifestation and mortality (Table III).

Table III. Effect of varied NPK contents of mulberry leaf and BmCPV inoculation on ET₅₀ for symptom manifestation and mortality in *Bombyx mori*.

Tableau III. Effet de teneurs variées en NPK dans la feuille de mûrier et de l'inoculation BmCPV sur l'ET₅₀ par rapport à la manifestation du symptôme et à la mortalité chez Bombyx mori.

N.P.K. contents (%)	ET ₅₀ values (days)		N.P.K × instar			
	Symptom	Mortality	Symptom		Mortality	
			III instar	IV instar	III instar	IV instar
Teneur en N.P.K (%)	Valeurs ET ₅₀ (jours)		N.P.K. × âge			
	Symptome	Mortalité	Symptome		Mortalité	
			Age III	Age IV	Age III	Age IV
1.17:0.50:0.96	11.50	13.00	11.00	12.00	12.00	14.00
0.46:0.40:0.94	13.00	14.33	12.00	14.00	13.33	15.33
0.36:0.40:0.67	14.00	15.33	11.00	17.00	12.67	18.00
0.66:0.40:0.80	16.17	17.83	14.33	18.00	15.33	20.33
0.79:0.25:0.80	18.67	19.83	16.00	21.33	17.33	22.33
1.03:0.40:0.86	20.33	21.17	18.00	22.67	18.00	24.33
1.00:0.40:0.90	21.50	22.83	20.33	22.67	22.33	23.33
0.50:0.20:0.43	22.33	23.17	21.67	23.00	23.00	23.33
SEm±	0.43	0.54	0.61		0.77	
C D at 5%	1.20	1.51	1.69		2.14	

Cocoon and shell weights:

The cocoon parameters i.e., cocoon and shell weights also registered significant effects. The higher single cocoon weight of 1.67g was encountered with the healthy batch. The NPK contents of mulberry exerted an effect on the cocoon weight. Further, the high N content leaf fed batches recorded significantly a higher cocoon weight (1.12 to 1.67g) (Table IV).

Table IV. Effect of varied NPK contents of mulberry leaf and BmCPV inoculation in silkworm on single cocoon weight (g).

Tableau IV. Effet de teneurs variées en NPK dans la feuille de mûrier et de l'inoculation BmCPV sur le poids du cocon (g) chez le ver à soie.

N.P.K. contents (%)	NPK × instar		NPK × CPV inoculation		N.P.K × Instar × CPV inoculation				
	Direct effect	III instar	IV instar	Healthy	Inoculated	III instar		IV instar	
		Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated
	Teneur en N.P.K. (%)	N.P.K. × âge		N.P.K. × inoculation CPV		N.P.K. × âge × Inoculation CPV			
	Effet direct	3ème âge	4ème âge	Sain	Inoculé	3ème âge		4ème âge	
						Sain	Inoculé	Sain	Inoculé
1.17:0.50:0.96	1.67	1.33	2.03	1.91	1.45	1.42	1.23	2.39	1.67
0.46:0.40:0.94	1.47	1.21	1.73	1.76	1.19	1.30	1.14	2.22	1.24
0.36:0.40:0.67	1.40	1.19	1.62	1.66	1.15	1.25	1.14	2.07	1.16
0.66:0.40:0.80	1.45	1.25	1.66	1.70	1.20	1.37	1.14	2.03	1.28
0.79:0.25:0.80	1.36	1.10	1.63	1.58	1.15	1.13	1.06	2.02	1.24
1.03:0.40:0.86	1.31	1.06	1.58	1.60	1.03	1.08	1.04	2.12	1.03
1.00:0.40:0.90	1.24	1.06	1.43	1.56	0.92	1.08	1.04	2.05	0.80
0.50:0.20:0.43	1.12	0.90	1.34	1.49	0.74	1.07	0.74	1.92	0.75
SEm±	0.006	0.009		0.009				0.01	
CD at 5%	0.017	0.025		0.025				0.03	

Table V. Effect of varied NPK contents of mulberry leaf and BmCPV inoculation in silkworm on single cocoon shell weight (g).

Tableau V. Effet de teneurs variées en NPK dans la feuille de mûrier et de l'inoculation BmCPV sur le poids de la coque soyeuse (g) chez le ver à soie.

N.P.K. contents (%)	NPK × instar		NPK × CPV inoculation		N.P.K × Instar × CPV inoculation				
	Direct effect		III instar	IV instar	Healthy		Inoculated		
			III instar	IV instar	III instar	IV instar	III instar	IV instar	
			Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated	
Teneur en N.P.K. (%)	N.P.K. × âge		N.P.K. × inoculation CPV		Inoculation N.P.K. × âge × CPV				
	Effet direct	3ème âge	4ème âge	Sain	Inoculé	3ème âge		4ème âge	
						Sain	Inoculé	Sain	Inoculé
1.17:0.50:0.96	0.207	0.197	0.217	0.192	0.222	0.171	0.222	0.212	0.222
0.46:0.40:0.94	0.227	0.251	0.204	0.210	0.245	0.224	0.278	0.195	0.212
0.36:0.40:0.67	0.211	0.219	0.204	0.250	0.172	0.228	0.209	0.272	0.135
0.66:0.40:0.80	0.191	0.230	0.153	0.204	0.178	0.236	0.223	0.173	0.133
0.79:0.25:0.80	0.183	0.202	0.164	0.201	0.166	0.211	0.194	0.191	0.138
1.03:0.40:0.86	0.198	0.225	0.171	0.231	0.165	0.258	0.193	0.205	0.137
1.00:0.40:0.90	0.184	0.167	0.202	0.153	0.216	0.172	0.162	0.134	0.270
0.50:0.20:0.43	0.209	0.163	0.256	0.242	0.177	0.196	0.130	0.288	0.225
SEm+	0.023	0.020		0.020				0.030	
C.D. at 5 %	0.064	0.040		0.040				0.064	

The cocoon weight reduced drastically in batches infected in the IV instar. Least cocoon weight of 1.04 to 1.06g with leaf containing 0.79:0.25:0.80, 1.03:0.40:0.86 and 1.0:0.40:0.90 per cent NPK with III instar inoculation and 0.80g with the latter and a highest cocoon weight of 1.23 and 1.67g with the leaf having 1.17:0.50:0.46 per cent NPK respectively in III and IV instar infections. The cocoon shell weight exhibited the same trend as the cocoon weight (Table V). These observations are in agreement with Narayanan *et al.*, (1966) who opined that an increased level of nitrogen up to 150

kg per hectare per year to a mulberry garden increased the cocoon weight, the cocoon shell weight and the cocoon filament length while the shell percentage decreased with the increased level of nitrogen. However, as per Yokoyama (1962), a higher dose of 'N' was effective in increasing the mulberry foliage yield but was inferior with respect to its influence on silkworm rearing. Kasiviswanathan and Sitarama Iyengar (1971) observed too that the application of 'N' to mulberry favoured slightly higher cocoon yield, silk percentage and cocoon filament length. The present study has clearly brought to light that the nutritional status of the mulberry leaf has a considerable role in governing the disease incidence. A little literature has been documented in this regard. Nevertheless, imbalanced nutrients provided to silkworm through mulberry leaf not fulfilling the nutritional requirements qualitatively and quantitatively may itself make the worms become physiologically weak thereby enhancing the susceptibility of silkworm to infectious diseases. Thus imbalanced nutrition may serve as one of the principal predisposing factors largely contributing for epizootics.

REFERENCES

- AIZAWA K. (1971) Structure of polyhedra and virus particles of cytoplasmic polyhedrosis. In: The Cytoplasmic Polyhedrosis Virus of Silkworm (Eds. Aruga, H. and Tanada Y.) Univ. Tokyo Press, Tokyo, pp.23-96.
- ARUGA H. (1962) Induction of resistance to nuclear and cytoplasmic polyhedrosis in silkworm. *J. Silkworm*, 13, 71-82.
- KASIVISWANATHAN K., SITARAMA IYENGAR M.N. (1971) Residual effect of nitrogen fertilisation on the leaf yield of mulberry. *Indian J. Seric.*, 10, 117-119.
- NARAYANAN E.S., KASIVISWANATHAN K., SITARAMA IYENGAR M.N. (1966) Effects of varietal feeding irrigation levels and nitrogen fertilisation on larval development and cocoon characters of *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 5, 13-17.
- SAMSON M.V., BAIG M., SHARMA S.D., BALAVENKATASUBBAIAH, M. SASIDHARAN T.O., JOLLY M.S. (1990) Survey on relative incidence of silkworm diseases in Karnataka, India. *Indian J. Seric.*, 29, 248-254.
- SHYAMALA M.B. (1953) Influence of certain nitrogenous supplementation on the nutrition of silkworm. Ph. D. Thesis, Indian Institute of Science, Bangalore.
- YOKOYAMA T. (1962) Sericulture. *Ann. Rev. Ent.*, 8, 297-298.

INFLUENCE DE LA NUTRITION DES FEUILLES DE MURIERS ET DE L'INFESTATION PAR BmCPV SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA MALADIE ET CERTAINS CARACTERES DU COCON CHEZ *BOMBYX MORI* L.

R.N. BHASKAR¹, R.GOVINDAN, M.C. DEVALAH & D.RADHAKRISHNA²

1. Département de Sériciculture.

2. Département de l'Agriculture Microbiologique, U.A.S., G.K.V.K., Bangalore - 560 056, Inde.

*Nous avons étudié l'influence des feuilles de mûriers ayant des taux variables en azote, phosphore et potassium sur les vers à soie **Bombyx mori** L. des 3^e et 4^e stades larvaires inoculés avec le Bm CPV sur le développement de la maladie et sur certains caractères des cocons survivants. Les larves inoculé avec le BmCPV et que l'on a nourrit avec des feuilles contenant plus d'azote ont enregistré une plus faible valeur ET50 pour les symptômes de la maladie et la mortalité. Les vers inoculés nourris de feuilles contenant un taux élevé de potassium ont présenté une valeur ET50 plus forte pour des symptômes de la maladie et la mortalité. Les larves nourries de feuilles contenant plus d'azote ont donné des cocons plus lourds parmi les groupes sains.*

INTRODUCTION

La récolte des cocons de vers à soie est imprévisible à cause de plusieurs facteurs.

Le Virus Polyédrose Cytoplasmique (CPV) de *Bombyx mori* est l'un des plus communs en sériculture dans la région du Karnataka qui connaît une incidence de 27,76 % sur sa production de soie (Samson polyédrose, 1990).

Les vers à soie malades montrent des symptômes de réduction de la consommation de nourriture, un développement retardé, une couleur blanchâtre et terne et un corps flasque. Les facteurs importants influençant la déclaration de la maladie sont la qualité inférieure de la feuille de mûrier, i.e. des feuilles extrêmement dures ou molles, des feuilles conservées trop longtemps, une température élevée et les fluctuations de la température et de l'humidité (Aruga, 1962).

Comme la lecture attentive de documentations n'a donné aucune information sur l'influence du statut nutritionnel de la feuille de mûrier sur le développement de la Polyédrose Cytoplasmique chez le ver à soie, *Bombyx mori*, une étude a été menée dans cette optique et les résultats sont exposés dans cet article.

MATERIELS ET METHODES

Des mûriers (M 5) ont été cultivés séparément sous différentes doses de NPK (tableau 1). Les échantillons de feuilles prélevés à 45 jours post-application ont été analysés avec différents traitements contenant du NPK par les méthodes standards habituelles. Les feuilles prélevées sur chaque lot ont été utilisées séparément pour l'élevage de vers à soie à partir du stade de levée jusqu'au stade de filage.

Technique d'infestation :

Les corps d'inclusions polyédriques de BmCPV (PIBs) récupérés à partir d'intestins moyens blanchis de larves des vers à soie inoculés ont été concentrés par une centrifugation répétée à 5 000 t / mn pendant 10 minutes jusqu'à l'obtention d'un culot blanchâtre (Aizawa, 1971). Le culot résultant a été mis en suspension dans de l'eau distillée afin d'obtenir une suspension stock avec laquelle une suspension contenant $1,6 \times 10^7$ PIBs par ml a été préparée puis inoculée aux groupes de vers à soie à expérimenter.

Les vers à soie des stades larvaires III et IV du ver à soie ont été inoculés et élevés séparément. Les groupes non inoculés ont été maintenus pour cette étude. Les groupes inoculés et non inoculés ont été élevés séparément afin de connaître le développement de la maladie. Les observations ont été notées concernant les manifestations symptomatiques, la mortalité larvaire, le chargement en PIBs par ml d'extrait d'intestin moyen, le poids des cocons et des coques.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le statut nutritionnel de la feuille de mûrier donnée aux vers à soie influence largement la croissance et le développement. Le nourrissage avec des feuilles à nutrition optimale afin de répondre aux besoins de la larve aussi bien qualitativement que quantitativement se répercute sur la sensibilité aux maladies infectieuses. En d'autres termes, la malnutrition fonctionne comme facteur de prédisposition à la maladie épizootique. De là, trois nutriments majeurs, ie N, P et K, ont été appliqués aux mûriers dans des proportions variables et les feuilles ainsi cultivées ont été utilisées séparément pour l'élevage du ver à soie de la levée jusqu'au filage.

Les résultats sont présentés ci-dessous.

Poids des larves matures :

Le poids de la larve mature était maximale (22,72 gr / 10 larves) lorsqu'elle était nourrie de feuilles contenant un fort taux d'azote (1,17 %) ; le poids était plus faible (14,99 / 10 g) avec des feuilles contenant moins d'azote (0,5 %). La feuille à teneur faible en azote a réduit d'une manière significative le poids des larves matures (tableau II), cela est en accord avec Shyamala (1953) qui a observé que l'application d'azote sous la forme de sels d'ammonium aussi bien fournis directement par des feuilles de mûriers conduit à une légère hausse dans la croissance du ver à soie. De plus, Narayanan et coll., (1966) ont signalé qu'un taux plus élevé d'azote jusqu'à 150 kg par hectare et par an sur un champs de mûriers augmente le poids des larves à terme.

Le ET50 pour les manifestations de symptômes et de mortalité :

Le ET50 pour la déclaration des symptômes et de la mortalité a aussi montré quelques différences significatives. Pour le stade larvaire III, la valeur de l'infestation ET50 est de 22,33 jours et pour le stade larvaire IV, elle est de 23,17 jours. L'ET50 concernant la mortalité est de 23,17, 22,83, 21,17, 19,83, 17,83, 15,33, 14,33 et 13,00 jours en respect avec les vers nourris de feuilles contenant respectivement 1,17:0,5:0,96 ; 0,46:0,40:0,94 ; 0,36:0,40:0,67 ; 0,66:0,40:0,80 ; 0,79:0,25:0,80 ; 1,3:0,40:0,86 ; 1,00:0,40:0,90 et 0,50:0,20:0,43 pour cent en NPK. Lorsque le contenu en potassium de la feuille augmente, il y a une augmentation de la valeur ET50 pour la manifestation de symptômes ainsi que de la mortalité (tableau III).

Le poids du cocon et de la coque :

Les paramètres du cocon i.e., le poids du cocon et de la coque, ont aussi donné des résultats significatifs. Le poids du cocon le plus important (1,67 g) a été trouvé parmi le groupe sain. Le NPK contenu dans les mûriers a exercé un effet sur le poids du cocon. De plus, les lots de vers à soie nourris à 1,67) (tableau IV).

Le poids du cocon est radicalement réduit dans les groupes infestés des stades larvaires IV. Les poids les plus bas s'échelonnent de 1,04 à 1,06 g pour des feuilles contenant 0,79:0,25:0,80, 1,03:0,40:0,86 et 1,0:0,40:0,90 pourcent de NPK avec inoculation dans le stade larvaire III à 0,80 g pour le dernier et les poids les plus élevés de 1,23 à 1,67 g pour des feuilles contenant 1,17:0,50:0,46 % de NPK, respectivement dans les stades larvaires infectés III et IV. Le poids de la coque a donné les mêmes tendances que le poids du cocon (tableau V). Ces observations sont en accord avec Narayanan et coll. (1966) qui était d'avis qu'un taux élevé d'azote, jusqu'à 150 kg par hectare et par an dans les mûraies accroissait le poids des cocons, des coques et la longueur des filaments tandis que le pourcentage de coque décroissait avec l'accroissement des taux d'azote. Cependant, pour Yokoyama (1962), une dose plus importante de 'N' était efficace dans l'accroissement du rendement en feuillage du mûrier mais était néfaste en ce qui concerne son influence sur l'élevage du ver à soie. Kasiviswanathan and Sitatama Iyengar (1971) ont observé aussi que l'application de 'N' au mûrier favorisait une légère hausse du rendement en cocons, du pourcentage de soie et de la longueur des filaments du cocon. Cette étude indique clairement que le statut nutritionnel des feuilles du mûrier a un rôle considérable dans la gestion de l'incidence des maladies. Peu de documents existent sur ce sujet. Cependant, la nourriture fournie aux vers à soie par les feuilles de mûrier si elle ne remplit pas les besoins nutritifs qualitativement et quantitativement, peut donner des vers physiologiquement faibles et augmenter alors la sensibilité du ver aux maladies infectieuses. Une nutrition déséquilibrée peut servir de facteur principal prédisposant largement aux epizooties.

COMPARATIVE NUTRITIVE VALUE OF BUSH AND TREE MULBERRY LEAVES IN BIVOLTINE SEED REARING

V.G. MARIBASHETTY, R. RAGHURAMAN, H. VENKATESH & S. PUTTASWAMY

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

Production and supply of quality seed is one of the vital factors that influence the success of commercial silkworm cocoon crop. Leaf quality has some relevance in this regard. The impact of mulberry leaves from bush and tree type plantation on silkworm rearing performance at different seed multiplication levels was evaluated. The rearing and grainage performance of batches fed with tree leaf is superior when compared to the batches fed with leaves harvested from bush plantations. The tree mulberry leaf is relatively richer in crude protein, carbohydrate and fiber content with a slightly lower moisture percentage. The significance of the tree mulberry leaf in seed crop rearing is discussed.

Keywords: Silkworm, seed, mulberry, plantation system, nutritive value.

INTRODUCTION

The bivoltine sericulture development has been one of the priority sectors of the Indian silk industry for over a decade. The present production level far below the targeted levels is due to many reasons. Production of quality silkworm seed is one of the vital factors that influence the success of commercial silkworm cocoon crop. In India multibivoltine hybrids are utilised for commercial silkworm rearing. The efficiency and quality of cocoon production at hybrid level are directly linked with the quality of parental seed cocoons. Seed crop performance is an index to evaluate the quality by considering different characters like survival rate, pupation rate, cocoon weight, shell weight, shell percentage and cocoon yield. While selecting the seed cocoon crops fixed norms are followed which vary depending on multiplication levels (P3, P2 & P1), seasons and breeds (Benjamin *et al.*, 1988). Since the requirement is comparatively low at P3 and P2 levels, strict selection of seed cocoons as per norms is possible. However, the number of cocoons per kilogram, which is reflective of the individual cocoon weight, is considered to grade the seed cocoon quality at P1 level. Considering the hypothesis that in egg production, the number of individuals is more important than the individual quality such as cocoon weight, it is doubtful whether such a practice is really economical (Benjamin *et al.*, 1988). The possibilities of post-harvest cocoon melting, low moth emergence and laying yield are important industrial constraints. The indications being racial in character are influenced significantly by rearing management and quality of the provided feed. There is ample scope for manipulating the environment to suit the requirement and rearing inputs. The leaf quality under field condition becomes a certain constraint. Different cultural practices would influence significantly the quality of mulberry. This could be essentially the source for improved feed input. The mulberry leaves from bush and tree systems of plantation have been found to differ (leaf maturity) in quality as seen from the rearing practices (Das Gupta, 1961 and Krishnaswami *et al.*, 1970). However, reports on the relevance of bush and tree mulberry leaf on seed crop rearing in tropics is scanty. Hence, the present work was taken up to understand the nutritive value of mulberry leaf from bush and tree systems of plantation and its relevance on the seed crop performance followed by grainage behaviour.

MATERIALS AND METHODS

The M5 variety of mulberry, raised under bush and tree systems of plantation was identified as the host plant for the proposed study. Under the bush system, plants with 0.9 × 0.9 m spacing, pruned at 0.3 m from the ground and as trees having 3m between plants and stump height of 1.5 m were used. The plantations were 12 years old and individual leaf harvest approach was practiced in both the systems. Besides applying nearly 12 tonnes of farm yard manure as basal dose, 250 Kg N and 100 Kg each of P₂O₅ and K₂O per hectare in five split doses were applied and followed by leaf harvest. Furrow and basin systems for irrigation have been adapted for bush and tree plantations respectively. Two popular bivoltine races i.e. NB4D2 and KA spinning white peanut and white oval cocoons respectively were used for the present study.

Ten disease free layings (Dfls) for each race were brushed in cellular fashion and reared by following the techniques suggested by Krishnaswami (1978). Further, five beds of each race were identified for feeding the leaf from bush and tree systems of plantation. Important parameters in silkworm seed rearing such as fecundity, brushing percentage, larval duration, weight of mature larvae, yield/10,000 larvae brushed by number and weight, single cocoon weight (SCW), single shell weight (SSW) and cocoon shell ratio (CSR) were assessed. The cocoons generated during the first rearing were considered as P4 stock and Dfls were prepared in subsequent crops from the respective source to raise the layings for rearing at P3 and P2 levels of multiplication. The identified norms for selection were followed during each crop. The seed cocoon processing and seed preparations were done under standard conditions as suggested by Petkov *et al.*, (1979). Studies were repeated in three seasons of a year. The characters considered for the grainage study are: post harvest melting (%), pupation rate (%), moth emergence (%) and number of layings/kg of cocoons. Here also the characters were assessed following the standard formulae. The number of observations and replications were maintained as per the required statistical design. Simultaneously, during each crop tender, medium and coarse leaves were collected from mulberry bushes and trees. In each crop, leaf samples were weighed, dried in an oven at 70 °C until a constant weight was obtained, desiccated and the moisture content was determined. The dried leaves were powdered and stored for chemical analysis. The nutritive value of the leaf was assessed by estimating crude protein, total sugar, reducing sugar, starch, soluble carbohydrate and mineral contents according to the procedure of AOAC (1980).

RESULTS

The rearing data pertaining to important characters are detailed in Table I. The characters i.e., fecundity, weight of 10 mature larvae, yield/10,000 larvae by number and cocoon shell ratio are significantly higher ($P > 0.5$) in the batches fed with tree leaves (Table I). Though the values for the brushing percentage, larval duration, yield by weight and single cocoon and shell weight are non-significant, a marginal increase in the values of batches fed with tree leaves is evident in all the three levels of seed multiplication.

Different aspects contributing to egg production efficiency and laying yield were studied in seed cocoons harvested from both the batches. The results are presented in Table II. In general the post harvest melting is significantly high in KA. The pupation rate of batches fed with tree leaves is higher at P4, P3 and P2 levels. In addition, moth emergence and number of layings/kg of cocoons was significantly higher ($P > 0.5$) in the batches fed with tree leaves (Table II).

Table III represents the nutritive value of the leaves of bush and tree systems of plantation. The mean nutritive values of bush and tree leaves during three seasons of a year were found to be significant ($P > 0.05$). Tree leaves showed a higher crude protein (18.64%) and crude fibre (9.22%) content whereas bush leaves showed a slightly higher moisture content (77.48%).

Table I. Comparative performance of seed crops fed with bush and tree mulberry leaves.

Tableau I. Performance comparative de graines obtenues par récoltes nourries avec des feuilles de mûriers provenant de buissons et d'arbres.

Multiplication level	Planting system	Races	Fecundity (No.)	Brushing %	Larval duration D:H	Wt. of 10 mature larvae (g)	Yield/10,000 larvae brushed		Single cocoon Wt. (g)	Single shell Weight (g)	CSR %
Niveau de multiplication	Système de plantation		Fécondité (Nbre)	% de levée	Durée larvaire J:H	Pds de 10 larves matures (g)	Rendement /10 000 larves levées		Poids d'un cocon (g)	Poids d'une coque (g)	Richesse soyeuse %
							Nbre	Pds. (kg)			
P4	Tree Arbre	NB4D2	601	90.00	26:20	39.2	8423	13.81	1.64	0.340	20.73
		KA	587	91.40	26:20	37.8	8112	13.62	1.68	0.338	20.11
	Bush Buisson	NB4D2	608	96.50	27:05	42.5	6923	12.53	1.81	0.367	20.27
		KA	598	87.50	27:00	40.7	7049	11.56	1.69	0.337	19.94
		C.D at 5%		4.362	0.498	0.110	0.607	142.88	0.138	0.038	0.0087
P3	Tree Arbre	NB4D2	622	93.40	26:20	38.0	8250	13.44	1.63	0.341	20.92
		KA	601	89.70	26:20	38.1	8043	13.83	1.70	0.340	20.00
	Bush Buisson	NB4D2	590	93.40	27:05	41.8	7075	12.87	1.82	0.359	19.72
		KA	611	93.00	27:00	41.7	6876	11.75	1.71	0.331	19.35
		C.D. at 5%		5.027	0.426	0.110	0.783	128.63	0.161	0.048	0.0063
P2	Tree Arbre	NB4D2	607	90.60	26:20	39.0	8034	13.65	1.71	0.341	19.94
		KA	653	93.70	26:20	39.0	8032	13.65	1.71	0.340	19.92
	Bush Buisson	NB4D2	621	92.90	27:05	40.7	7192	12.37	1.72	0.349	20.29
		KA	580	90.40	27:00	38.9	6788	11.60	1.72	0.340	20.17
	C.D. at 5%		7.302	0.372	0.110	0.629	137.28	0.149	0.039	0.0047	0.608

DISCUSSION

The Indian sericulture industry is largely characterised by wide variabilities in cocoon yield performances. These variabilities are mainly attributed to regional differences associated with climatic variations inherent both between and within the regions which in turn have an influence on mulberry leaf quality.

The influence of leaf quality on silkworm seed crop performances is widely appreciated (Yokoyama, 1962). Though due importance is being given to maintain the genomic entity and vigour of silkworm races at different multiplication levels (P4, P3 and P2), significance of nutritive value of leaf harvested from the tree system of plantation at rearers and grainure's level is yet to be realised. Lack of adequate information on the nutritional composition of mulberry leaf and its influence on silkworm rearing performances has been an handicap in effective seed multiplication.

Table II. Grainage performance of batches fed with bush and tree leaves during different multiplication levels.

Tableau II. Performance de grainage de lots nourris avec des feuilles de buisson et d'arbre pendant différents niveaux de multiplication.

Multiplication	Planting system	Race	Post harvest melting %	Pupation rate (%)	Moth emergence %		No. of layings / Kg cocoon
					Female	Male	
	<i>Système de plantation</i>	<i>Race</i>	<i>% de dommage post-récolte</i>	<i>Taux de nymphose (%)</i>	<i>% d'émergence des papillons</i>		<i>Nbre de pontes / kg de cocons</i>
					<i>Femelle</i>	<i>Mâle</i>	
P4	Tree	NB4D2	12.83	87.17	76.39	72.98	198
	Arbre	KA	17.76	82.24	67.19	64.24	170
	Bush	NB4D2	15.28	84.72	70.21	66.28	190
	Buisson	KA	19.93	80.07	66.93	63.47	167
P3	Tree	NB4D2	14.74	85.26	76.44	73.56	176
	Arbre	KA	16.29	80.79	66.53	63.95	157
	Bush	NB4D2	17.93	82.07	69.93	65.04	182
	Buisson	KA	23.68	76.32	65.04	63.33	152
P2	Tree	NB4D2	16.31	83.69	72.85	69.71	156
	Arbre	KA	18.93	78.07	64.74	62.27	149
	Bush	NB4D2	18.29	81.71	69.01	66.50	151
	Buisson	KA	26.08	73.92	63.90	60.59	147
		SE ±	2.09	1.36	1.02	1.87	2.36
		CD at 5%	3.93	6.17	3.46	6.08	8.12

Table III. Nutritive values of bush and tree mulberry leaves (mean of three seasons).

Tableau III. Valeurs nutritives de feuilles de buissons et d'arbres de mûrier (moyenne de trois saisons).

Planting system	Moisture ⁺ %	Crude protein (g / 100g)	Total sugar (g / 100g)	Starch (g/100 g)	Soluble carbohydrate (g / 100 g)	Crude fibre (g / 100 g)
Système de plantation	Humidité * %	Protéines brutes (g/ 100 g)	Sucres totaux (g / 100g)	Amidon (g / 100 g)	Hydrates de carbone soluble (g/100 g)	Fibres brutes (g / 100 g)
Bush / Buisson	77.48	16.61	2.98	12.96	15.79	7.41
Tree / Arbre	73.36	18.64	3.37	14.77	17.69	9.22
CD at 5%	0.29	0.34	0.19	0.14	0.14	0.17

* Percentage on an oven dry basis / Pourcentage basé sur un séchage au four.

In the present study, during different multiplication levels, there is an improvement in the rearing performance of the popular bivoltine races fed with tree leaves, which is in confirmation with reports of Katusmata (1975) and Askari and Sharan (1982). The influence of tree leaves is also reflected at grainage level, wherein pupation rate and egg production efficiency of experimented batches is higher than control batches which corroborates the work of Sudo *et al.*, (1981). Qader *et al.*, (1991) and Qader (1991) have established that tree leaves are nutritively superior to bush leaves except for the moisture content which supports the present findings.

While studying the importance of leaf protein content, Nikajima (1975) emphasised that special attention must be paid for better silkworm growth and cocoon quality. While reporting the results on nutritional quality evaluation of leaves of different maturity levels, he observed maximum content of crude protein and soluble carbohydrates in middle order and fully grown leaves on a shoot, while crude fat, fibres and mineral contents increased with maturity. Similar observations were also made by Sreedhara *et al.*, (1991). Hence the importance of a tree leaf which possesses good nutritional value for silkworm seed crops, is evidenced by the present studies.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors gratefully acknowledge the Director, KSSRDI, Bangalore for facilities and Division Chief (Moriculture), staff of P4 (BV) unit and Mulberry physiology section for help and co-operation.

REFERENCES

- ASKARI S. & SHARAN R.K. (1982) Studies on the effect of feeding leaves of varying maturity on the developmental stages of *Bombyx mori* L. J. Adv. Zool. 3(2):90-94.

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) (1980) In 'Methods of analysis', 11th Ed., Washington D.C., 20044, USA.
- BENCHAMIN K.V., KRISHNA REDDY R. & NASEEMA BEGUM A. (1988) Studies on the relationship between seed cocoon quality and egg yield in silkworm, *Bombyx mori* L.; Proceedings of the International Congress on Tropical Sericulture Practices, Feb. 18-23rd, 1988, Central Silk Board, Bangalore, 25-34.
- BONGALE U.D., CHALUVACHARI & NARAHARI RAO B.V. (1991) Mulberry leaf quality evaluation and its importance, *Indian Silk*, 30(8):51-53.
- DAS GUPTA K.P. (1961) Feeding mulberry to silkworm. A comparative analytical study on the effect of feeding with different types of mulberry leaves obtained by different methods of cultivation on silkworm, *Bombyx mori* L., *Indian Silk J.*, 1(4):14-22.
- KATSUMATA F. (1975) Text book of tropical sericulture, Japan Overseas Co-operation Volunteers, Tokyo, Japan, 463-496.
- KRISHNASWAMI S., ROY D. & MUKHERJEE S.K (1970) Yield and nutritive value of mulberry leaves as influenced by planting season, spacing and frequency of pruning, *Indian J. Seric.* 9(2): 38-42.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing, Bull. No.2 Central Silk Board, India, 1-23.
- NAKAJIMA S. (1975) Chemical components and quality of mulberry leaves, in Text book of tropical sericulture, Japan Overseas Co-operation Volunteers, Tokyo, Japan, 154-165.
- PETKOV N., GEORGI A., MLADENOV & NICHEVA J. (1979) Effect of mating lengths of silkmoths of some inbred silkworm, *Bombyx mori* lines on silkworm seed quantity and quality, *Zhivotnov D. Nauki.*, 16(3): 116-122.
- QUADER M.A. (1991) Varietal differences and correlation studies in the nutritional composition of the mulberry. *Sericologia*. 31(3): 449-453.
- QADER M.A., SARKER A.A. & AHMED S.U. (1991) Comparative study on the nutritive value of bush, low-cut and tree mulberry leaves at different maturity stages. *Sericologia* 31(3): 429-435.
- SREEDHAR V.M., SHANTHAKUMARI M. & BORAI AH G. (1988) Preliminary studies on the changes in the levels of protein, sugar, chlorophyll and moisture content in the developed leaves of mulberry, *Morus indica*. Proc. Inter. Cong. Tropical Sericulture Practices, Feb. 18-23, Central Silk board, Bangalore, 35-38.
- SUDO M., SOH Y. & OKAJIMA T. (1981) The relation between the leaf quality at different leaf order, silkworm growth and cocoon quality. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 50(4): 306-310.
- YOKOHAMA T. (1962) Synthesised science of sericulture. Central Silk Board, India, 47-273.

COMPARAISON DE LA VALEUR NUTRITIVE DES FEUILLES DE MURIERS PROVENANT DE BUISSONS (BASSES FUTAIES) ET D'ARBRES DANS L'ELEVAGE POUR LA PRODUCTION D'OEUF BIVOLTINS

V.G. MARIBASHETTY, R.RAGHURAMAN, H. VENTATESH & S. PUTTASWAMY

Institut de Recherche et Développement en Sériculture de l'Etat du Karnataka, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, Inde

La production et l'approvisionnement en graines de vers à soie de qualité sont des facteurs vitaux qui influencent le succès de la commercialisation des récoltes de cocons. A cet égard, la qualité de la feuille est de grande importance. Nous avons étudié l'impact des feuilles de mûriers provenant de plantations en buissons (tailles basses) et d'arbres sur la performance de l'élevage des vers à soie à différents niveaux de multiplication de la graine. La performance de l'élevage et du grainage des lots nourris de feuilles d'arbres est supérieure lorsqu'on la compare aux lots nourris de feuilles récoltées des mûraies de buissons. La feuille de l'arbre du mûrier est relativement plus riche en protéines brutes, en hydrates de carbone et fibres avec un pourcentage un peu plus faible de teneur en eau. Nous avons étudié l'importance des feuilles d'arbres de mûriers dans l'élevage pour la production des œufs bivoltins.

INTRODUCTION

Le développement de la sériculture bivoltine a été un des secteurs prioritaires dans l'industrie indienne de soie pendant plus d'une vingtaine d'années. Le niveau de production actuel, bien en dessous des objectifs souhaités, est dû à de nombreuses causes. La production d'œufs de vers à soie de qualité est l'un des facteurs vitaux qui influence le succès de la récolte commerciale des vers à soie. En Inde, les hybrides multibivoltins sont utilisés pour l'élevage commercial des vers à soie. Le rendement et la qualité de la production des cocons hybrides sont directement liés à la qualité des cocons parentaux. Le rendement des récoltes d'œufs est un indice pour l'évaluation de la qualité, ceci en tenant compte de caractéristiques différentes comme le taux de survie, le taux de nymphose, le poids du cocon, le poids de la coque, le pourcentage de production de coques et de cocons. Tandis que l'on sélectionne les récoltes de graines, les normes établies sont suivies qui varient en fonction des niveaux de multiplication (P3, P2 & P1), des saisons et des reproductions (Benjamin et coll., 1988). Comme la demande est comparativement plus basse aux stades P3 et P2, une stricte sélection des cocons pour graines par rapport aux normes est possible. Cependant, le nombre de cocons par kilogramme, qui est en rapport avec le poids individuel d'un cocon, est considéré comme indice de qualité de la graine au niveau P1. En considérant l'hypothèse que dans la production d'œufs, le nombre d'individus est plus important que la qualité d'un individu comme son poids, il est peu probable qu'une telle pratique soit réellement économique (Benjamin et coll. 1988). Les possibilités de mélange après récolte des cocons, la lente émergence du papillon et le rendement de la ponte sont des contraintes industrielles importantes. Les indications, d'ordre racial dans les caractéristiques, sont influencées d'une manière significative par la gestion de l'élevage et la qualité de la nourriture fournie. Les possibilités de manipulation de l'environnement sont grandes pour convenir aux besoins et aux apports de l'élevage. La qualité de la feuille sous des conditions naturelles entraîne une certaine contrainte. Des pratiques de culture différentes influencent d'une manière significative la qualité du

mûrier. Cela pourrait être la source essentielle d'une amélioration en apport de nourriture. Nous avons remarqué que les feuilles de mûriers provenant de plantations de buissons (tailles basses) et d'arbres ne possédaient pas les mêmes qualités (maturité de la feuille), au cours des pratiques d'élevages. Cependant, les rapports concernant l'importance des feuilles du mûrier en buissons ou l'arbre sur l'élevage de récolte de graines sous les tropiques sont insuffisants. Ce travail a donc été entrepris afin de mieux comprendre la valeur nutritive de la feuille de mûrier provenant des systèmes de plantations en buissons et en arbres, l'importance de cette même feuille de mûrier sur la performance de la ponte de graines ainsi que le comportement dans le grainage.

MATERIELS ET METHODES

La variété de mûrier M5 cultivée en système de buissons (basses fûtaies) et d'arbres a été retenue comme la plante 'hôte' pour cette étude. Nous avons utilisé pour le système en buissons (basses fûtaies) une taille à 0,3 m du sol (les plants étant espacés de 0,9 x 0,9 m) et pour le système d'arbres, un espace de 3 m entre eux et une hauteur de taille de 1,5 m. Les plantations sont âgées de 12 ans et une récolte séparée de feuilles a été pratiquée dans chacun des systèmes. De plus, nous avons utilisé environ 12 tonnes de fumier comme engrais de base et avons appliqué 250 kg d'azote et 100 kg de P₂O₅ et K₂O par hectare en cinq doses successives. Nous avons suivi tout cela jusqu'à la récolte des feuilles. Des systèmes de sillons et bassins pour l'irrigation ont été adoptés respectivement pour les mûraies de buissons et d'arbres. Deux races bivoltines communes i.e. NB4D2 et KA filant respectivement des cocons blancs ceintrés et des cocons blancs de formes ovales ont été utilisées pour l'étude.

Dix pontes saines (Dfls) dans chacune des races ont été levées en mode cellulaire et élevées en suivant les techniques suggérées par Krishnaswami (1978). Par ailleurs, cinq litières de chacune des deux races ont été identifiées pour être nourries de feuilles provenant des systèmes de mûraies en basses fûtaies et d'arbres. D'importants paramètres tels que la fécondité, le pourcentage de levées, la durée larvaire, le poids des vers adultes, le rendement / 10 000 de larves levées en nombre et en poids, le poids d'un cocon (SCW), le poids d'une coque et la richesse soyeuse (CSR) ont été évalués dans l'élevage pour les graines de vers à soie. Les cocons générés lors du premier élevage ont été considérés comme le stock P4 et les portées saines (Dfls) lors des récoltes suivantes ont été préparées à partir de leur source respective, pour produire les pontes aux stades P3 et P2 de multiplication. Les normes établies pour la sélection ont été suivies pour chaque récolte.

Le traitement des cocons et les préparations de graines ont été faits sous les conditions standards suggérées par Petkov et coll. (1979). Les études ont été répétées sur trois saisons d'une année.

Les caractéristiques considérées pour l'étude du grainage sont le mélange post-récolte (%), le taux de pupaison (%), d'émergence du papillon (%) et le nombre de pontes / kg de cocons. Ici, toutes les caractéristiques ont été évaluées en suivant les formules conventionnelles. Le nombre d'observations ainsi que celui des reproductions ont été ajustés pour l'établissement de l'étude statistique nécessaire. Simultanément, lors de chaque récolte, les feuilles tendres moyennes et grossières ont été récoltées des arbustes et arbres de mûriers. Pour chaque récolte, des échantillons de feuilles ont été pesés, séchés dans un four à 70°C jusqu'à ce qu'un poids constant ait été obtenu, puis desséchés ; nous avons déterminés la teneur en eau. Les feuilles séchées ont été réduites en poudre et conservées pour des analyses chimiques. La valeur nutritive des feuilles a été évaluée en déterminant le contenu en protéines, en sucres totaux, en sucres réducteurs, en amidon, en hydrates de carbone soluble et en minéraux selon la procédure de AOAC (1980).

RESULTATS

Les données d'élevage se rapportant aux caractéristiques importantes sont détaillées dans le tableau I. Les caractéristiques i.e., la fécondité, le poids des larves mûres, le rendement / 10 000 larves

en nombre et le % de coque du cocon sont significativement plus élevés ($P > 0,5$) dans les lots nourris de feuilles d'arbres de mûriers (tableau I). Bien que, les valeurs de % de levées, la durée larvaire, le rendement en poids, le poids du cocon et le poids de la coque ne sont pas significatives, une hausse marginale des valeurs des lots nourris de feuilles d'arbres de mûriers est évidente aux trois niveaux de multiplication des graines.

Les différents aspects contribuant à l'efficacité de la production de graines et au rendement de la ponte ont été étudiés sur les graines de cocons récoltés dans les deux lots. Les résultats sont présentés dans le tableau II. En général, le dommage post récolte est significativement élevé dans KA. Le taux de pupaison des lots nourris de feuilles d'arbres est plus élevé aux niveaux P4, P3 et P2.

De plus, l'émergence des papillons et le nombre de ponte/kg de cocons sont sensiblement plus élevés ($P < 0,5$) dans des lots nourris de feuilles d'arbres (tableau II).

Le tableau III représente la valeur nutritive des feuilles des systèmes de plantation en arbustes et arbres. Les valeurs nutritionnelles moyennes des systèmes de plantation en buissons et en arbres sur trois saisons d'une année s'avèrent significatives ($p > 0,05$). Les feuilles d'arbres de mûriers ont un contenu plus élevé en protéine brute (18,64 %) et fibres brutes (9,22 %) alors que les feuilles des buissons ont un contenu légèrement plus élevé en eau (77,48 %).

DISCUSSION

L'industrie indienne de sériciculture est grandement caractérisée par une grande variabilité en ce qui concerne les performances du rendement en cocons. Ces variabilités sont principalement attribuées aux différences régionales associées aux variations climatiques inhérentes entre les régions et à l'intérieur de celles-ci, qui, en retour ont une influence sur la qualité de la feuille de mûrier. L'influence de la qualité de la feuille de mûrier sur les performances des récoltes de graines de vers à soie est largement étudiée (Yokoyama, 1962). Bien qu'une attention importante est donnée pour maintenir l'entité géonomique et la vigueur des races de vers à soie à différents stades de multiplications (P4, P3 et P2), l'importance de la valeur nutritive de la feuille récoltée dans un système de plantation d'arbres au niveau de l'élevage et du grainage n'est pas encore prise en compte.

Le manque d'informations valables concernant la composition nutritionnelle de la feuille de mûrier et son influence sur les performances de l'élevage des vers à soie a été un handicap dans la multiplication effective des graines.

Dans cette étude, lors de différents niveaux de multiplications, nous avons remarqué une amélioration dans la performance de l'élevage des races bivoltines communes nourries de feuilles d'arbres de mûrier ; cela confirme les rapports de Katusmata (1975) et Askari et Sharan (1982). L'influence des feuilles d'arbres de mûriers se répercute au niveau du grainage, où l'efficacité du taux de nymphoses et la production d'œufs des lots expérimentés sont plus élevés que sur les lots témoins ce qui corrobore le travail de Sudo et coll. (1981). Qader et coll. (1991) et Qader (1991) ont établis que les feuilles des arbres de mûriers sont nutritionnellement supérieures aux feuilles des arbustes de mûrier exception faites pour la teneur en eau, ce qui confirme les résultats présents.

Tandis qu'il étudiait l'importance du contenu en protéines de la feuille de mûrier, Nikajma (1975) a mis en avant le fait qu'une attention particulière doit être portée pour une meilleure croissance des vers à soie et une meilleure qualité du cocon. Alors qu'il rapportait les résultats sur l'évaluation de la qualité nutritionnelle des feuilles de mûrier à différents niveaux de maturité, il a noté un contenu maximum en protéines brutes et en hydrates de carbone dans les feuilles d'ordre moyen en pleine croissance, alors que les contenus en graisses brutes, en fibres et en minéraux augmentaient avec la maturité. Des observations similaires ont été faites par Sreedhara et coll. (1991). L'importance de la feuille d'arbre de mûrier, qui possède une bonne valeur nutritionnelle pour les récoltes de graines de vers à soie est mise en évidence dans notre étude.

SCREENING OF MULBERRY VARIETIES FOR RESISTANCE TO LEAF RUST CAUSED BY *PERIDIOPSORA MORI*

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA³

1. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India.
2. Central Silk Board, Bangalore 560 068, India.
3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus, Bangalore 560 056, India.

Seventy six mulberry varieties of various *Morus* sp comprising both exotic and indigenous origins were screened for their resistance/susceptibility to the rust disease caused by *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et al., from 1989 to 1992. Among these, 9 exotic and 18 indigenous varieties have shown relatively less susceptible to leaf rust with less number of lesions and of small size. The varieties English black, Goshoerami, Calabresa, Mizusuwa, Ichinose, Ichihai akagi, Kamiso 402, Kairyochinose, Japan II and KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri II, Kukupila, KGL-2, KGL 3, PKS 1-2, Haveri I, S-30, Mundargi, PKS 1-12, S-54, PKS 1-9, are recommended for breeding and evolving of disease resistant varieties against rust disease.

Key words : Mulberry leaf rust, screening for disease resistance, susceptibility.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus alba* L.) is cultivated for its foliage which forms the sole feed for the silkworms (*Bombyx mori* L.). Mulberry is susceptible to many diseases caused by fungi, of which, leaf spot, powdery mildew and leaf rust are the most important. The review of literature reveals that rust fungus on mulberry is known to Indian workers as *Aecidium mori* Barclay (Barclay 1891, Rangaswamy et al., 1976), or as *Cerotelium fici* (Cast) Arthur (Patel et al., 1949). Barclay himself has described rust as *Caeoma mori* (Barclay 1890) and effected the transfer as *Aecidium mori* (Barclay) Syd. & Butler. But the rust fungus prevailing on mulberry in India is not in conformity with generic concepts of either *Aecidium* or *Cerotelium* for the absence of aecial and telial stages. The rust is prevailing in anamorphic state only.

Mulberry leaves infected with the rust fungus expressed the blister like pustule with only uredinium having ostiole through which creamish masses of spores were seen coming out. Mulberry rust uredinium enclosing sessile to subsessile, subglobose - oval to pyriform four germ pore containing, echinulate to verrucose surfaced urediniospores covered by cellular peridium, confirms the characters with the uredinium of form - genus *Peridiopsora* Kamat and Sathe (Sathe 1969).

In uredinales, the genera are identified primarily according to the features of telial state. There are many rusts where the telial state has not been discovered, so assigning them to any particular genus is rather difficult. Rust fungi exhibits host specialisation, this attribute has been exploited by mycologists in studying aecia and uredinia and assigning them to different form genera.

* Address for correspondance.

The uredinial structure of mulberry rust fungus partially resembles the structure of *Caeoma mori* Barclay. But most of the features of the mulberry rust fungus conforms to the features of the genus *Peridiopsisora*. Hence the transfer of the species to the form - genus *Peridiopsisora* and is effected as *Peridiopsisora mori* (Barclay) Prasad *et al.*, instead of *Aecidium mori* Barclay (Rangaswami *et al.*, 1976). The leaf rust fungus *Peridiopsisora mori* (Barclay) Prasad *et al.*, (Prasad *et al.*, 1993) shows maximum disease severity on leaf from August to February. Mulberry rust fungus requires moderately high humidity (above 60 % RH) and moderate temperature (20-26°C) for its rapid development.

Development of disease resistant varieties by breeding is an important goal in plant improvement programme and breeders prefer plants having horizontal resistance. Horizontal resistance is characterised by one or more of the following characters : increased latent period, decreased spore production, decreased infection period, decreased infection efficiency and decreased lesion size (Van der Plank, 1963). Slow rusting cultivars allow pathogen to develop, but at a more reduced rate and few urediniospores are produced per uredinium (Johnson and Wilcoxon, 1978 ; Shaner, 1983).

The mulberry plant has a wide adaptability and greater genetic diversity. The weather conditions in the South West and central part of Karnataka is well suited to grow most of the mulberry varieties which are known to be susceptible to rust but there is no information on the relative resistance of the varieties.

There is little work on the relative susceptibility of mulberry varieties to leaf rust (Govindaiah *et al.*, 1989). It was observed that the widely grown variety M-5 is susceptible to rust and hence the need for the development of resistant varieties has arisen. The present work was therefore undertaken to screen 76 varieties collected from various geographical areas.

MATERIAL AND METHODS

Screening of varieties was carried out during August to February from 1989 to 1992, under ex-situ conditions at KSSR & D Institute farm of Bangalore which is situated at 12.58 N, 77.35 E and elevated at 914 m from MSL with soil containing 1.3 % of organic carbon and 6.8 pH. The mulberry plant flourishes well in red loamy soil with an optimum temperature of 25°C and pH ranging from 6.5 to 7.3 with an annual rainfall up to 800 mm.

Both indigenous and exotic varieties of mulberry were raised in rows separated by 60 cm distance and with a distance of 60 cm from plant to plant. Each row contained 12 plants. The exotic varieties were raised through budgrafts to local mulberry stock. The control variety M-5 was planted after every 5th variety and also as border plants of the boundary. Recommended agronomical practices under irrigated conditions were followed throughout the experiment (Rangaswami *et al.*, 1976). The prevalence of rust infection was recorded once in two weeks.

Four shootlets one each from four randomly chosen plants of each variety was considered to assess the level of susceptibility. To assess the level of susceptibility, the mean number of pustules per cm² on each leaf from the topmost (glossy leaf) to the lowermost (senescing leaf) on a shootlet were counted and pustule size was measured. A perspex graticule measuring 10 × 10 cm, divided into 1 × 1 cm squares, was laid on leaves and number of pustules within each square was counted in four randomly chosen squares and the mean pustule number per cm² was calculated for each leaf and then for each shootlet. The minimum and maximum length and width of 10 pustules from each variety was measured through stereozoom binocular microscope [Wild Heerbrugg (Leitz)]. The mean length (l) and width (a) of a pustule was calculated. The size of pustule was calculated using the formula $\pi \cdot a \cdot l / 2$ and pustule size was expressed in mm². The average number of pustules per cm² was multiplied by the size of a pustule of each variety and the total infected area per cm² leaf was expressed. The mean infected areas of all the varieties were arranged from lesser infected area (resistance) to higher infected area (susceptibility). The variety M-5 was considered as control variety, although it is also susceptible to leaf rust. To assess the resistance and severity, two groups were made, i.e., those varieties having more infection and those varieties having less infection than M-5 and critical difference (CD) was

also calculated separately. The data were statistically analyzed by Completely Randomized Design (CRD) method. The weather data, recorded during the screening period included mean maximum, minimum temperature, relative humidity and the rainfall received during the past 24 hours prior to observation of disease severity. The weather data were expressed in mean and extremes for the whole month (Fig. 1) and correlated with disease severity.

RESULTS

Peridiopsis mori infects mulberry leaves and causes severity when the following meteorological factors prevail: minimum temperature range of $18 \pm 2^\circ\text{C}$, maximum temperature range of $26 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity range of 60-95% and rainfall up to 30 cm distributed in a month. The upper most 4 leaves did not show any pustule in spite of being exposed to an atmosphere containing urediniospores. The appearance of the symptoms and pustule formation occur from the 5th or 6th leaf downwards.

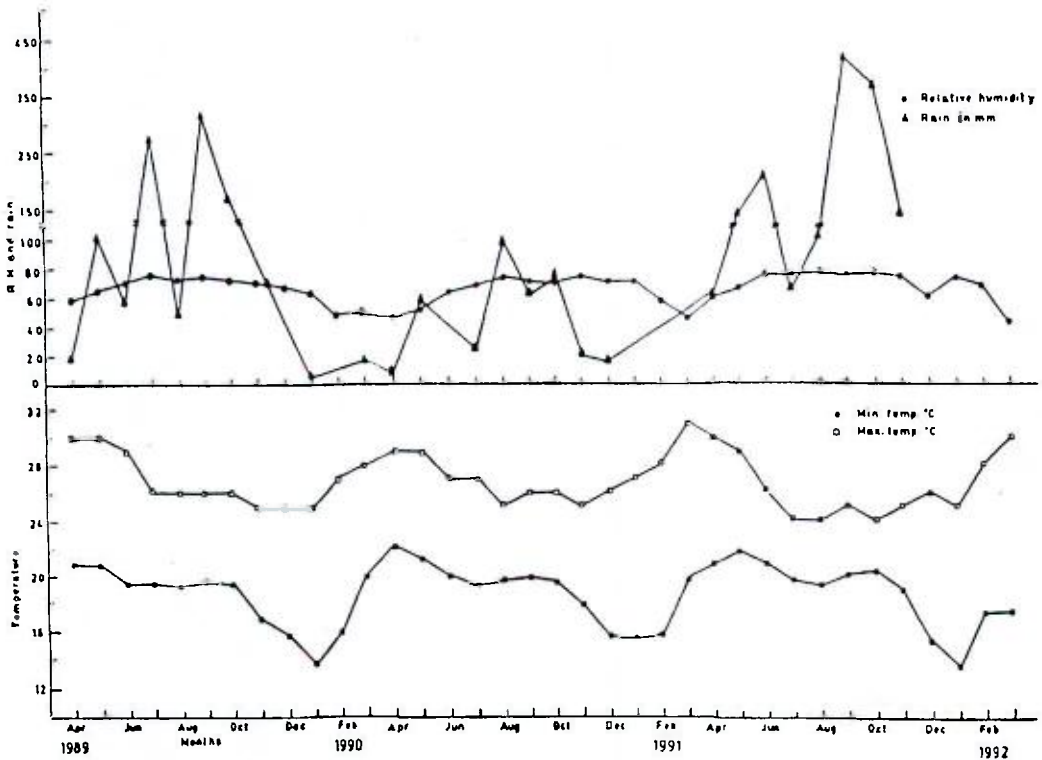


Fig. 1

Fig. 1. Meteorologic data for the period - 1989 April to 1992 March.

Fig. 1. Données météorologiques de la période avril 1989 à mars 1992.

Table I. Mean lesion area of infection indicating degree of resistance (Paired comparison among the different varieties of mulberry 1 to 31 for the period 1989-92).

Tableau I. Surface moyenne de lésion de l'infestation indiquant le degré de résistance (Comparaison par paire parmi les différentes variétés de mûriers 1 à 31 pour la période de 1989 à 1992).

I Sl.No Variety	II Variety	III Lesion area Surface de lésion	IV										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	English black	7.76				•	•	•	•	•	•	•	•
2	KGL-1	8.41						•	•	•	•	•	•
3	Goshocrami	8.87								•	•	•	•
4	Calabresa	9.36									•	•	•
5	OPH-1	9.57										•	•
6	Mizusuwa	9.87										•	•
7	RFS-135	10.52										•	•
8	Havcri -II	10.63										•	•

I Sl. No.	II Variety	III Lesion area Surface de lésion	IV											
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	English black	7.76	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
2	KGL-1	8.41	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	Goshoerami	8.87	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
4	Calabresa	9.36	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
5	OPH-1	9.57	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	Mizusuwa	9.87	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
7	RFS-135	10.52	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
8	Haveri -II	10.63	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
9	Kukupila	12.34										•	•	•
10	Ichinose	12.41											•	•
11	KGL-3	12.75											•	•
12	Ichihaiakagi	12.92												•

CD = 1.20 and S.E. = 0.61 Lesion area = in mm²/cm²

Sl. No. 1-15 = Most resistant comparing to M-5

Sl.No. 16-28 = More resistant comparing to M-5

Sl. No. 29-30 = Equivalent to M-5

The varieties (Sl. No.) marked by "•" in the IVth column are more in degree of susceptibility to rust against the variety mentioned in the same row of IInd column.

Table I. (Continued).

Tableau I. (Suite).

I Sl. No.	II Variety	III Lesion area	IV								
			S. de lésion	23	24	25	26	27	28	29	30
N° de série	Variété	S. de lésion	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1	English black	7.76	•	•	•	•	•	•	•	•	•
2	KGL-1	8.41	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	Goshocrami	8.87	•	•	•	•	•	•	•	•	•
4	Calabresa	9.36	•	•	•	•	•	•	•	•	•
5	OPH-1	9.57	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	Mizusuwa	9.87	•	•	•	•	•	•	•	•	•
7	RFS-135	10.52	•	•	•	•	•	•	•	•	•
8	Haveri -11	10.63	•	•	•	•	•	•	•	•	•
9	Kukupila	12.34	•	•	•	•	•	•	•	•	•
10	Ichinose	12.41	•	•	•	•	•	•	•	•	•
11	KGL-3	12.75	•	•	•	•	•	•	•	•	•
12	Ichihaiakagi	12.92	•	•	•	•	•	•	•	•	•
13	KGL-2	13.08	•	•	•	•	•	•	•	•	•
14	Debradun	13.13	•	•	•	•	•	•	•	•	•
15	PKS 1-2	13.21	•	•	•	•	•	•	•	•	•
16	Haveri I	13.34	•	•	•	•	•	•	•	•	•
17	S-30	13.52	•	•	•	•	•	•	•	•	•
18	Kamiso 402	13.56	•	•	•	•	•	•	•	•	•
19	Kairoichinose	13.75	•	•	•	•	•	•	•	•	•
20	Mundargi	13.99	•	•	•	•	•	•	•	•	•
21	PKS 1-12	14.04	•	•	•	•	•	•	•	•	•
22	Z-1	14.23	•	•	•	•	•	•	•	•	•
23	S-54	14.49	•	•	•	•	•	•	•	•	•
24	PKS 1-9	14.63	•	•	•	•	•	•	•	•	•
25	E-1	14.89	•	•	•	•	•	•	•	•	•
26	Japan II	15.38	•	•	•	•	•	•	•	•	•
27	ZR 2-10	16.08	•	•	•	•	•	•	•	•	•
28	E-4	16.28	•	•	•	•	•	•	•	•	•
29	Serpentina	17.38	•	•	•	•	•	•	•	•	•
30	Kaliakutahi	17.93	•	•	•	•	•	•	•	•	•
31	M-5	18.49	•	•	•	•	•	•	•	•	•

CD = 1,20 et Ecart type = 0,61 Surface de lésion = en mm²/cm²

N° de Série 1-15 = Les plus résistants en comparaison avec M-5

N° de Série 16-28 = Plus résistants que M-5

N° de Série 29-30 = Equivalents à M-5

Les variétés (N° de série) marquées d'un "•" dans la colonne IV, ont un degré de sensibilité à la rouille supérieur par rapport à la variété mentionnée dans la même ligne de la colonne II.

Table II. Mean lesion area of infection indicating degree of susceptibility (Paired comparison among the different varieties of mulberry 1 to 46 for the period 1989-92).

Tableau II. Surface de lésion moyenne d'infestation indiquant le degré de sensibilité (Comparaison de paire parmi les différentes variétés de mûriers 1 à 46 pour la période de 1989-92).

I Sl. Variety No.	II	III Lesion area	IV														
			5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
N° de Variété Série		Surface de lésion															
1	M-5	18.49	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
2	Wasamidori	19.11			•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	E-3	19.98										•	•	•	•	•	•
4	S-41	20.81													•	•	•
5	E-5	20.92													•	•	•
6	E-8	21.25													•	•	•
7	Local male	21.54													•	•	•
8	Z2	21.56													•	•	•

CD = 2.39 and SE = 1.22 :

Sl. No. 2-4 = Equivalent to M-5 in susceptibility.

Sl. No. 5-24 = More susceptible comparing to M-5.

Sl. No. 25-37 = Highly susceptible comparing to M-5

Sl. No. 38-45 = Very highly susceptible comparing to M-5

The varieties (Sl. No.) marked by "*" in the IV th column are more in degree of susceptibility to rust against the variety mentioned in the same row of II nd column.

Lesion area = in mm² / cm².

CD = 2,39 et Ecart type = 1,22

N° de série 2-4 = Equivalent à M-5 en sensibilité.

N° de série 5-24 = Plus sensible par rapport à M-5.

N° de série 25-37 = Haute sensibilité par rapport à M-5

N° de série 38-45 = Très haute sensibilité par rapport à M-5

Les variétés (N° de série) marquées d'un "*" dans la colonne IV ont un degré de sensibilité à la rouille supérieur par rapport à la variété mentionnée dans la même ligne de la colonne II.

Surface de lésion = en mm² / cm².

Table II. (Continued).

Tableau II. (Suite).

I Sl. No.	II Variety	III Lesion area Surface de lésion	IV													
			19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	M-5	18.49	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
2	Wasamidori	19.11	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	E-3	19.98	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
4	S-41	20.81	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
5	E-5	20.92	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	E-8	21.25	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
7	Local male	21.54	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
8	Z-2	21.56	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
9	Hazaz	22.27	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
10	Challagri	22.30	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
11	Kajali	22.32	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
12	KGL-4	22.60	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
13	Kosan	22.71	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
14	Dharwar	22.92	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
15	RFS-175	23.02	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
16	PKS 1-14	24.05	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
17	Mysore local	24.08	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
18	Italian	24.22	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
19	E-6	24.44	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
20	KGL-5	24.83	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
21	Philippines	25.63	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
22	Tsukasaguwa	25.77	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
23	E-9	26.04	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
24	PKS 1-11	26.93	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
25	Zactul	27.00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
26	Berhampore Sl	27.42	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
27	S-36	27.88	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
28	Soundatti	29.61	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

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

I St. N°	II Variety Variété	III Lesion area S. lésée		IV												
		33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	
1	M-5	18.49	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
2	Wasamidori	19.11	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	E-3	19.98	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
4	S-41	20.81	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
5	E-5	20.92	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	E-8	21.25	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
7	Local male	21.54	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
8	Z-2	21.56	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
9	Hazaz	22.27	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
10	Challageri	22.30	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
11	Kajali	22.32	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
12	KGL-4	22.60	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
13	Kosan	22.71	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
14	Dharwar	22.92	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
15	RFS-175	23.02	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
16	PKS I-14	24.05	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
17	Mysore local	24.08	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
18	Italian	24.22	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
19	E-6	24.44	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
20	KGL-5	24.83	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
21	Philippines	25.63	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
22	Tsukasaguwa	25.77	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
23	E-9	26.04	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
24	PKS I-11	26.93	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
25	Zactul	27.00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
26	Berhampore S-1	27.42	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
27	S-36	27.88	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
28	Soundatti	29.61	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
29	Dchli wild lobed	30.30	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
30	Kanzan	31.61	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
31	OPH-3	32.09	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
32	Thalaghattapura	32.27	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
33	Delhi wild compl.	32.82	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
34	M R	33.98	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
35	KGL 6	35.28	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
36	Japan I	35.54	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
37	E-7	35.87	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
38	KNG	36.66	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
39	Kokuso 27	37.60	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
40	Kamiso 401	38.02	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
41	Paraguay	39.41	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
42	PKS I-4	43.68	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
43	Berhampore	46.01	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
44	B-1	46.76	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
45	Australian	47.35	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
46	Scinichinose	47.59	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Table III. Mean level of lesion area and lesion number as an indication of the degree of resistance in mulberry varieties to rust disease.

Tableau III. Niveau moyen de la surface de lésion et du nombre de lésions comme indicateurs du degré de résistance des variétés de mûrier à la rouille.

Sl. No.	Variety	Lesion area in mm ² /cm ² leaf	Mean lesions number per cm ²
N° de Série	Variété	Surface de lésions en mm ² /cm ²	Nombre de lésions moyen par cm ²
1	English black	7.76	22.25
2	KGL-1	8.41	20.50
3	Goshoerami	8.87	23.33
4	Calabresa	9.36	22.33
5	OPH-1	9.57	21.75
6	Mizusuwa	9.87	24.08
7	RFS-135	10.52	25.67
8	Haveri-II	10.63	24.17
9	Kukupila	12.34	30.75
10	Ichinose	12.41	28.25
11	KGL-3	12.75	27.08
12	Icihei akagi	12.92	28.92
13	KGL-2	13.08	26.67
14	Dehradun	13.13	26.08
15	PKS 1-2	13.21	23.17
16	Haveri-I	13.34	25.17
17	S-30	13.52	35.58
18	Kamiso-402	13.56	25.58
19	Kairyoichinose	13.75	27.50
20	Mundargi	13.99	29.75
21	PKS 1-12	14.04	31.92
22	Z-1	14.23	32.33
23	S-54	14.49	25.42
24	PKS 1-9	14.63	25.67
25	E-1	14.89	31.67
26	Japan-II	15.38	24.42
27	Z-10	16.08	30.33
28	E-4	16.28	25.33
29	Serpentina	17.38	22.00
30	Kaliakutahi	17.93	23.92
31	M-5	18.49	28.75

Table IV. Expression of severity of rust corresponding to infection (in mm²/cm² leaf area) in different mulberry varieties at different periods.

Tableau IV. Sévérité de la rouille correspondant à l'infestation (en mm²/cm² de feuille) chez les différentes variétés de mûriers à des périodes différentes.

Sl. No.	Variety Variété	Period / Période								
		October Octobre			November Novembre			December Décembre		
No. de série		1989-90	1990-91	1991-92	1989-90	1990-91	1991-92	1989-90	1990-91	1991-92
1	KGL-1	9.02	7.59	8.61	-	-	-	-	-	-
2	OPH-1	10.23	8.58	9.90	-	-	-	-	-	-
3	RFS-135	11.07	-	10.56	-	9.94	-	-	-	-
4	Haveri-II	11.11	10.12	10.67	-	-	-	-	-	-
5	Kukupila	13.22	11.19	12.60	-	-	-	-	-	-
6	KGL-3	13.28	12.34	-	-	-	12.62	-	-	-
7	KGL-2	13.65	12.46	-	13.12	-	-	-	-	-
8	Haveri-I	13.91	12.59	-	-	-	13.52	-	-	-
9	PKS 1-2	14.11	12.11	13.40	-	-	-	-	-	-
10	S-30	14.25	13.30	13.02	-	-	-	-	-	-
11	Kamiso 402	14.31	12.72	13.65	-	-	-	-	-	-
12	S-54	15.39	13.54	14.54	-	-	-	-	-	-
13	PKS 1-9	15.39	13.82	-	-	-	14.68	-	-	-
14	Z-10	16.96	15.37	-	-	-	15.90	-	-	-
15	M-5	-	-	-	18.74	17.71	19.00	-	-	-
16	Serpentina	18.37	15.80	17.97	-	-	-	-	-	-
17	Goshoerami	-	8.17	9.03	-	-	-	9.41	-	-
18	PKS 1-12	-	13.53	13.97	14.63	-	-	-	-	-
19	Calabresa	-	-	9.64	9.84	8.61	-	-	-	-
20	Dehradun	-	-	13.13	12.62	12.63	-	-	-	-
21	Kiroichinose	-	-	13.63	-	-	-	14.25	13.38	-
22	Japan-II	-	-	15.59	16.07	14.49	-	-	-	-
23	English black	-	-	-	-	7.00	-	8.22	-	8.05
24	Mundargi	-	-	-	14.81	13.28	13.87	-	-	-
25	E-1	-	-	-	12.51	14.34	14.81	-	-	-
26	E-4	-	-	-	17.17	15.28	16.38	-	-	-
27	Kaliakutahi	-	-	-	18.74	17.06	18.00	-	-	-
28	Mizusuwa	-	-	-	-	-	-	10.25	9.43	9.94
29	Ichinose	-	-	-	-	-	-	12.98	11.92	12.32
30	Ichihai akagi	-	-	-	-	-	-	13.80	11.62	13.34
31	Z-1	-	-	-	-	-	-	14.63	13.86	14.19
32	Wasamidori	-	-	-	20.63	18.65	18.06	-	-	-
33	E 3	-	19.62	-	21.24	-	19.08	-	-	-
34	S 41	-	19.75	-	21.73	-	20.94	-	-	-
35	E 5	-	-	-	-	19.98	21.68	21.11	-	-
36	E 8	22.31	20.43	-	-	-	21.00	-	-	-
37	Z 2	22.43	20.70	-	-	-	21.56	-	-	-

Table IV (Continued)

Tableau IV (Suite).

Sl. variety N° variété	Period / Période								
	October Octobre			November Novembre			December Décembre		
No. de série	1989-90	1990-91	1991-92	1989-90	1990-91	1991-92	1989-90	1990-91	1991-92
38 Local male	—	—	—	22.80	19.74	22.09	—	—	—
39 Kosan	—	—	—	23.90	21.79	22.43	—	—	—
40 Kajali	—	—	—	—	—	—	23.31	21.53	22.12
41 Challageri	—	21.00	22.53	23.38	—	—	—	—	—
42 Hazaz	23.40	20.28	23.14	—	—	—	—	—	—
43 KGL 4	23.66	21.39	22.75	—	—	—	—	—	—
44 Dharwar	—	—	—	—	—	—	23.76	22.14	22.86
45 RFS 175	—	—	—	24.01	22.31	22.74	—	—	—
46 PKS 1-14	25.38	22.55	24.21	—	—	—	—	—	—
47 Italian	25.50	23.16	—	—	—	24.01	—	—	—
48 E 6	—	—	24.44	25.50	23.38	—	—	—	—
49 Mysore local	25.68	21.67	—	—	—	24.88	—	—	—
50 KGL 5	—	—	26.09	23.50	24.91	—	—	—	—
51 Philippines	26.62	25.03	—	—	—	25.25	—	—	—
52 Tsukasaguwa	—	—	—	26.79	25.15	25.38	—	—	—
53 E 9	27.36	25.92	24.84	—	—	—	—	—	—
54 PKS 1-11	—	—	27.29	28.09	25.41	—	—	—	—
55 Zactul	28.13	27.00	25.88	—	—	—	—	—	—
56 Berhampore S1	28.91	26.09	—	—	—	—	—	—	—
57 S 36	—	—	—	29.10	26.56	27.97	—	—	—
58 Soundatti	30.38	28.60	29.43	—	—	—	—	—	—
59 Delhi wild lobed	—	—	—	32.07	28.53	30.30	—	—	—
60 Kanzan	—	—	—	32.77	—	31.32	—	30.74	—
61 OPH 3	33.64	—	31.61	—	31.03	—	—	—	—
62 Thalaghattapura	34.10	30.53	—	—	—	32.18	—	—	—
63 Delhi w. complete	34.93	31.08	32.45	—	—	—	—	—	—
64 M R	36.25	32.77	32.93	—	—	—	—	—	—
65 KGL 6	—	—	—	37.12	33.64	35.09	—	—	—
66 Japan I	—	—	—	37.26	33.47	—	—	—	35.88
67 E 7	37.82	34.13	35.67	—	—	—	—	—	—
68 KNG	38.48	36.14	—	—	—	35.36	—	—	—
69 Kokuso 27	—	—	—	39.13	—	—	—	36.31	37.37
70 Kamiso 401	39.98	36.28	—	—	—	37.82	—	—	—
71 Paraguay	—	—	—	41.33	37.24	39.66	—	—	—
72 PKS 1-4	40.85	44.67	45.52	—	—	—	—	—	—
73 Schinichinose	—	—	—	48.90	—	—	—	46.73	47.14
74 Berhampore	49.28	44.21	—	—	—	44.55	—	—	—
75 B 1	49.27	—	—	—	45.09	45.93	—	—	—
76 Australian	49.28	46.20	46.58	—	—	—	—	—	—

From the 76 mulberry varieties screened, 30 varieties showed mean lesion area 7.5 to 18.0 mm² within 1 cm² leaf area with a CD value of 1.20 (Table I), while the control variety M-5 showed 17.7 to 19.0 mm². the remaining 46 mulberry varieties showed higher susceptibility towards the rust with mean lesion area of 18.1 to 47.6 mm² with a CD value of 2.39 when compared to control variety M-5 (Table II). Among the 30 varieties (Table I) only 4 varieties viz. English black, KGL-1, Goshorami and Calabresa showed infection up to 9.36 mm² per cm² leaf area, thus indicating moderately higher resistance to rust.

On comparing all mulberry varieties with the control variety M-5 with CD value of 2.6 for 1989 ; 2.94 for 1990 and 2.85 for 1991 under CRD analysis the varieties viz., Wasamidori (1989-90) ; Wasamidori, E-3, local male, S-41, E-5, Hazaz, E-8 (1990-91) ; and Wasamidori, E-3, S-41, E-8, Z-2, E-5, local male, Kajali (1991-92) were on par with the control variety M-5 in susceptibility, while the other varieties namely Berhampore S-1 during 1989-90, KNG during 1990-91, and E-7 during 1991-92 were found to be more susceptible when compared to M-5.

In table I, varieties with S1.No.5 to 15 were most resistant compared to M-5 with an infection range of 9.37 to 13.29 mm² per cm² leaf area ; 13 varieties from S1.No 16 to 28 were more resistant compared to M-5 with an infection range of 13.30 to 16.29 mm² per cm² leaf area and it was found that varieties Serpentina and Kaliakutahi were on par with the control variety M-5 with an infection range of 16.30 to 18.49 mm² per cm² leaf area with CD and SE values of 1.20 and 0.61 respectively.

Of the 45 varieties excluding the control variety M-5 (Table II), all the 45 varieties showed higher susceptibility to rust when compared to M-5 having 18.5 to 48.00 mm² of mean infected area per cm² leaf area. From these 45 varieties, 3 varieties viz., Wasamidori, E-3, S-41 (Table II) were found to be on par with control variety M-5 in susceptibility showing an infection range of 18.49 to 20.89 mm² per cm² leaf area ; 20 varieties from S1.No 5 - 24 showed an infection range of 20.90 to 26.99 mm² per cm² leaf area which is referred to as more susceptible compared to M-5 ; 13 varieties from S1.No 25 - 37 showed an infection range of 27.00 to 36.00 mm² per cm² leaf area which is referred here as highly susceptible compared to M-5 and 9 varieties from S1.No 38 - 46 showed an infection above 36.01 mm² per cm² leaf area referred here as very highly susceptible comparing to M-5. The CD and SE values were 2.39 and 1.22 respectively.

Despite having larger number of lesions within a cm² leaf area compared to control variety M-5 (29 lesions), the varieties Kukupila (31 lesions), Ichihei akagi (29 lesions), S-30 (36 lesions), Mundargi (30 lesions), PKS 1-2 (32 lesions), Z 1 (32 lesions), E-1 (32 lesions) and Z-10 (30 lesions) showed lesser area of infection ranging from 12.60 - 16.08 mm² per cm² leaf area (Table III). This indicates that the above varieties were hypersensitive towards rust disease.

The disease expression and severity of rust varied from August to December, a few varieties expressed symptoms early and others late (Table IV).

During October the varieties namely KGL-1, OPH-1, Haveri-II, Kukupila, KGL-2, PKS 1-2, S-30, Kamiso-402, S-54, Serpentina showed lesser area of infection with a severity against the control variety M-5. The other varieties namely RFS-135, KGL-3, Haveri-I, PKS 1-9, Z-10, Goshorami, PKS 1-12, Calabresa, Dehradun, Japan-II showed severe rust symptom during later part of October to early November (Table IV).

The varieties namely Mundargi, E-1, E-4, Kaliakutahi showed severe rust symptom during November. Only English black variety was found to be the least susceptible to the rust with the infection range of 7.00 - 8.22 mm² per cm² leaf area during later part of November and early December. Kairyoichinose showed rust severity from later part of October to early December months. The varieties namely Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Z-1 showed rust severity during December.

The disease severity and more area of infection in different varieties (Table II and IV) occurred during October to November. The varieties namely E-5, Kanzan, Japan-I, Kokuso-27, Schinichinose expressed the severity of rust during later part of November and early December. The varieties namely Kajali, Dharwar expressed rust severity during December.

The present work indicated that varieties namely English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Z-1 showed delay in symptom expression, with severity during December. The analysis of variance indicated that different varieties contributed significantly to variance with respect to rust resistance. This was supported by mean size of rust infected area of each variety of mulberry averaged across severity over a period of three years. The variance in rust severity among different varieties and the observed differences between the years 1989-1992 can be considered as a measure of temporal variation due to weather factors. This reveals the magnitude of environmental component in the response of different mulberry varieties to the rust.

DISCUSSION

Variation in the degree of rust susceptibility in the varieties screened may be due to the genetic variability of mulberry varieties, the variation in the climatic conditions of the existence of different rust races.

Mulberry varieties, English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi and Z-1 developed rust symptoms slower than other varieties and this is due to several mechanisms. The slow stem rusting resistance in *Avena sterilis* may be due to (i) reduction in host penetration (ii) restricted development of mycelium in the host (iii) an increase in the time taken before eruption of pustules and (iv) reduction in uredospore production (Sztejnberg & Wahl 1976). It has been suggested that this type of resistance is not specific to variety and may provide a long-lasting type of resistance (Cladwell 1968 ; Van der Plank 1968).

Reduction in urediniospore germination and appressorium formation also contributes to lower level of penetration and thus to a slow rusting type of resistance. The difference in time taken for eruption of pustules and duration of urediniospore formation is to be studied across the varieties.

However, after observation, it appears that the resistance does exist in mulberry in the form of hypersensitive reaction. Some of the temperate varieties namely, English black, Goshierami, Calabresa, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Kamiso-402, Kairyoichinose and Japan II showed resistance to the rust disease despite their growth in tropical climate. This is attributed to cool weather, high humidity and moderate rainfall from August to December. Some of the tropical and subtropical varieties namely KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri-II, Kukupila, KGL 3, KGL 2, PKS 1-2, Haveri I, S-30, Mundargi, PKS 1-12, Z-1, S-54, PKS 1-9 and E-1 showed resistance to rust disease by acclimatizing to tropical climate. Hence these varieties are useful in mulberry improvement through breeding for disease resistance. The data indicate that leaf rust prevalence and severity is correlative with meteorological data. A temperature of $26 \pm 2^\circ\text{C}$ (during August to December), relative humidity between 70-95% and rainfall upto 30 cm distributed in a month triggers off the rust disease. However, heavy rainfall leads to negative effect on disease severity, in spite of temperature and relative humidity being ideal, which is due to washing off of inoculum from host leaf. Longer incubation period, fewer pustules per cm^2 of leaf area and restricted pustule size in wheat varieties were associated with slow rusting characters (Ohm & Shaner 1976 ; Kuhn *et al.*, 1978 and Shaner *et al.*, 1978). The slow rusting oats cut down the uredospores yield per pustule of crown rust (Heagle & Moore 1970). The mulberry varieties, English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Z-1, Dharwar & Kajali showing the slow rusting character can be used in breeding for disease resistance.

CONCLUSION

Rust on mulberry leaf caused by *Peridiopsisora mori* (Barclay) Prasad *et al.*, occurs as epidemics from September to February resulting in reduction of bio mass by premature defoliation. The varieties English black, Goshierami, Calabresa, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Kamiso-402, Kairyoichinose, Japan II and KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri II, Kukupila, KGL-3, KGL-2, PKS

1-2, Haveri 1, S-30, Mundargi, PKS 1-12, S-54, PKS 1-9 are recommended for breeding of disease resistant variety to rust.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank A.R. Keshavan, Technical Officer (ICAR), Department of Statistics University of Agricultural Sciences, Bangalore, for help in Statistical analysis.

The authors thank the Director, Divisional Chief (Moriculture) and Scientific Officer I (plant protection) of Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore, for facilities.

KVP thanks John Lacey and Maureen E. Lacey of Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts, England for providing literature and valuable suggestions.

REFERENCES

- BARCLAY A. (1890) Descriptive list of Uredineae occurring in the neighbourhood of Simla (Western Himalayas). III. Journal of Asiatic Society, Bengal, 59, pp 75-112.
- BARCLAY A. (1891) Additional Uredineae from the neighbourhood of Simla. III. Journal of Asiatic Society, Bengal, 60, pp 221-230.
- CLADWELL R.M. (1968) Breeding for general and/or specific plant disease resistance. In proc. 3rd Intl. wheat Genet. Symp., 5-9 August, Canberra, Australia. Ed. by K.W. Finlay and K.W. Shepherd pp. 263-272.
- GOVINDAIAH D.D., SHARMA, SENGUPTA K., GUNASHEKAR V., SURYANARAYANA N., MADHAVA RAO Y.R. (1989) Screening of mulberry varieties against major fungal diseases. Indian J.Seri., 28(2), 207-213.
- HEAGLE A.S., MOORE M.B., (1970) Some effects of moderate adult resistance to crown rust of oat. Phytopathology, 60, 461-66.
- JOHNSON D.A., WILCOXSON R.D. (1978) Components of slow rusting in Barley infected with *Puccinia hordei*. Phytopathology, 68, 1470-1474.
- KUHN R.C., OHM H.W., SHANER G.E. (1978) Slow leaf rust severity in wheat against twenty-two isolates of *Puccinia recondita*. Phytopathology, 68, 651-656.
- OHM H.W., SHANER G.E. (1976) Three components of slow rusting at different growth stages in wheat. Phytopathology, 66, 1356-1360.
- PATEL M.K., KAMAT M.N. and BHIDE V.P. (1949) Fungi of Bombay, Supplement I. Indian Phytopathology, 2, pp. 142-145.
- PRASAD K.V., DAYAKAR YADAV B.R., SULLIA S.B. (1993) Taxonomic status of rust on mulberry in India. Curr. Sci., 654(5), 424-425.
- RANGASWAMI G., NARASIMAHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.A., JOLLY M. S. (1976) Manual on Sericulture Vol. I, Mulberry Cultivation, Food Agriculture Organisation Rome. pp 1-150.
- SATHE A.V. (1969) *Peridiopsisora*, a new form-genus of Uredinales. Transactions of British Mycological Society, 53, pp.143-145.
- SHANER G. (1983) Growth of uredinia of *Puccinia recondita* in leaves of slow and fast rusting wheat cultivars. Phytopathology, 73, 931-935.
- SHANER G., OHM H.W., FINNEY R.E. (1978) Response of susceptible and slow leaf rusting wheat to infection by *Puccinia recondita*. Phytopathology, 65, 471-475.
- SZTEJNBERG A., WAHL I. (1976) Mechanisms and Stability of slow stem rusting resistance in *Avena sterilis*. Phytopathology, 66, 74-80.
- VAN DER PLANK J.E. (1963) Plant disease Epidemics and Control. Academic press, New York and London, pp 349.
- VAN DER PLANK J.E. (1968) Disease resistance in plants. Academic press New York and London, pp 206.

EVALUATION DE VARIETES DE MURIER POUR LEUR RESISTANCE A LA ROUILLE CAUSEE PAR *PERIDIOPSORA MORI*

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA³

1. Institut de Recherche et Développement en Sériciculture de l'Etat du Karnataka, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, Inde.
2. Bureau Central de la Soie, Bangalore 560 068, Inde
3. Département de microbiologie, Université de Bangalore, Jnana Bharathi Campus, Bangalore 560 056, Inde.

Soixante seize variétés de mûriers *Morus* sp aussi bien d'origines exotiques que locales ont été évaluées pour leur résistance/sensibilité à la maladie de la rouille causée par *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et coll., de 1989 à 1992. Parmi ces variétés, 9 exotiques et 10 locales sont relativement moins sensibles à la rouille car portant des lésions moins nombreuses et de petites tailles. Les variétés suivantes, English Black, Goshorami, Calabresa, Mizusunwa, Ichinose, Ichihai akagi, Kamiso 402, Kairyochinose, Japan II, KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri II, Kukupila, KGL 3, KGL2, PKS 1-2, Haveri I, S-30, Mundargi, PKS 1-12, S-54, PKS 1-9 sont recommandées pour la culture et pour le développement de variétés résistantes à la maladie de la rouille.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus alba* L.) est cultivé pour son feuillage qui est la seule nourriture du ver à soie *Bombyx mori* L. Le mûrier est sensible à beaucoup de maladies causées par des champignons, dont, la tâche du mûrier, le mildiou et la rouille qui sont les plus fréquentes. La documentation révèle que le champignon de la rouille est connu par les travailleurs indiens en tant que *Aecidium mori* Barclay (Barclay 1891, Rangaswamy et coll., 1976) ou en tant que *Cerotelium fici* (Cast) Arthur (Patel et coll., 1949). Barclay lui-même a décrit la rouille comme le *Caeoma mori* (Barclay 1890) et a effectué le transfert en tant que *Aecidium mori* (Barclay) (Syd. & Butler). Mais la rouille qui prédomine sur les mûriers en Inde ne correspond pas aux concepts génériques de l'*Aecidium* ou de *Cerotelium* par l'absence de stades spécifiques. La rouille est présente à l'état anamorphique seulement.

Les feuilles de mûrier infestées de rouille ont des cloques semblables à des pustules avec seulement une urédinie avec ostiole à travers laquelle des masses de spores crèmeux émergent. L'urédinium de la rouille du mûrier contient quatre spores sessiles, subsessiles ou subglobulaires (ovales à pyriformes) à l'intérieur d'urédiniospores à surface verrugueuse couvertes par le périidium cellulaire ce qui correspond à l'urédinium du genre *Peridiopsora* - Kamat et Sathe (Sathe 1969). Chez les urédinales, les genres sont d'abord identifiés en fonction des caractéristiques de l'état téliel. Il existe de nombreuses variétés de rouille dont on n'a pas trouvé le stade téliel ; donc, vouloir les assigner à un genre particulier est assez difficile.

La structure urédiniale de la rouille du mûrier ressemble en partie à la structure de *Caeoma mori* Barclay. Mais la plus grande partie des formes de la rouille du mûrier sont conformes aux formes du

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

genre *Peridiopsora*. D'où, le transfert des espèces dans le genre de *Peridiopsora* conduit à l'espèce *Peridiopsora mori* (Barclay) (Prasad et coll.), au lieu de *Aecidium mori* Barclay (Rangaswami et coll., 1976). Le champignon de la rouille *Peridiopsora mori* (Barclay) (Prasad et coll., 1993) montre une sévérité maximale de la maladie sur la feuille de mûrier d'août à février. Le champignon de la rouille du mûrier nécessite une humidité modérément élevée (au-dessus de 60 % RH) et une température modérée (20 et 26°C) pour un développement rapide.

Le développement des variétés résistantes aux maladies par la culture est un but important du programme pour l'amélioration des plantes ; les cultivateurs préfèrent les plantes qui possèdent une résistance horizontale. La résistance horizontale est caractérisée par une ou plusieurs des caractéristiques suivantes : une période latente plus grande, une production de spores plus faible, une période d'infestation plus courte, une plus faible efficacité d'infestation et une zone de lésions moins importante (Van der Plank, 1963). Les cultivars à progression lente de la rouille permettent aux pathogènes de se développer mais à un taux plus réduit et peu d'urédiniospores sont produits par urédinie (Johnson et Wilcoxon, 1978 ; Shaner, 1983).

Le mûrier possède une grande adaptabilité et une plus grande diversité génétique. Les conditions climatiques dans le sud-ouest et le centre du Karnataka conviennent bien pour la culture de la plupart des variétés de mûriers qui sont connues pour leur sensibilité à la rouille mais il n'y a aucune information concernant la relative résistance de ces variétés.

Il y'a peu de travaux sur la relative sensibilité des variétés de mûriers vis à vis de la rouille (Govindaiah et coll., 1989). Il avait été constaté que la variété M-5, largement répandue, est sensible à la rouille et donc le besoin de développer des variétés résistantes s'est fait sentir. Cette étude a donc été entreprise afin d'évaluer 76 variétés collectées dans différents lieux géographiques.

MATERIEL ET METHODES

L'étude des variétés a été entreprise d'août à février, entre 1989 et 1992, sous des conditions ex-situ au "KSSR & D. Institute farm" de Bangalore qui est située à 12,58 N et 77,35 E et à 914 m d'altitude avec un sol contenant 1,3 % de carbone organique et un Ph de 6,8. Le mûrier s'épanouit bien dans un sol riche en terreau 'rouge', avec une température optimale de 25°C, un Ph entre 6,5 à 7,3 et des pluies annuelles allant jusqu'à 800 mm.

Les variétés de mûriers locales et exotiques ont été cultivées en rangs séparés par 60 cm et une distance de 60 cm entre chaque plant. Chaque rangée contient 12 plants. Les variétés exotiques ont été greffées sur le stock local. Les pratiques agronomiques recommandées, des conditions d'irrigations précises ont été suivies tout au long de l'expérience (Rangaswami et coll., 1976). La fréquence de l'infestation à la rouille a été noté une fois sur une période de deux semaines.

Quatre rameaux de quatre plantes de chaque variété choisis au hasard ont été sélectionnés pour évaluer le degré de sensibilité. Nous avons estimé le degré de sensibilité en comptant sur un rameau le nombre moyen de pustules par cm² sur chaque feuille en partant du haut du rameau, aux feuilles vernissées, à la base, aux feuilles vieillissantes. Un gabarit mesurant 10 x 10 cm, divisé en carrés de 1 x 1 cm a été disposé sur les feuilles et le nombre de pustules dans chaque carré a été compté sur quatre carrés choisis au hasard puis le nombre moyen de pustules par cm² a été calculé pour chaque feuille puis pour chaque rameau. La longueur et la profondeur minimales et maximales de 10 pustules sur chaque variété ont été mesurées avec un microscope wild Heerbrugg (Leitz). La longueur moyenne (l) et la largeur (a) d'une pustule ont été mesurées. La taille du pustule a été calculée en utilisant la formule $\pi.a.l/2$ et la taille du pustule a été exprimée en mm². Le nombre moyen de pustules par cm² a été multiplié par la taille d'un pustule de chaque variété et nous avons calculé la zone totale infestée par cm². Les zones d'infestations moyennes de chaque variété ont été classées en allant de la zone d'infestation moindre (résistance) à la zone d'infestation maximale (sensibilité). La variété M5 était considérée comme la variété témoin, bien qu'elle soit sensible à la rouille. Pour mesurer la résistance et la sévérité, deux groupes ont été constitués i.e., les variétés qui ont plus d'infestations et celles qui

ont moins d'infestations que la variété M5, la différence critique (DC) a été calculée séparément. Les données ont été analysées de manière statistique.

Les données météorologiques, enregistrées pendant la période d'étude incluant la moyenne maximale, la température minimum, l'humidité relative et les pluies ont reçu pendant les dernières 24 heures priorité sur l'observation de la sévérité de la maladie. Les données météorologiques sont exprimées en moyennes et extrêmes pour tout le mois (Fig.1) et en corrélation avec la sévérité de la maladie.

RESULTATS

Peridiopsisora mori infeste les feuilles de mûrier et cause des dommages lorsque les facteurs météorologiques suivant prévalent : un écart de température minimale de $18 \pm 2^\circ\text{C}$, un écart de température maximale de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, une variation de l'humidité relative de 60-95% et des pluies allant jusqu'à 30 cm réparties sur un mois. Les quatre feuilles les plus hautes ne montrent aucun signe de pustule malgré l'exposition à une atmosphère contenant des urédiniospores. L'apparition de ces symptômes et la formation de pustules se produisent à partir de la cinquième ou la sixième feuilles en allant vers le bas.

Sur les 76 variétés évaluées, 30 ont montré des zones de lésions moyennes de 7,5 à 18,0 mm² sur une zone de 1 cm² avec une valeur DC de 1,20 (Tableau I), tandis que la variété témoin, M5, a montré des lésions de 17,7 à 19,0 mm². Les 46 variétés de mûriers restantes ont montré une sensibilité plus grande face à la rouille avec des zones de lésions moyennes de 18,10 à 47,60 mm² avec une valeur DC de 2,39 lorsque comparée à la variété M5 (Tableau II). Parmi les 30 variétés (Tableau I), seulement 4 variétés, c'est à dire, English black, KGL-1, Goshocrami et Calabresa ont montré une infestation jusqu'à 9,36 mm² par cm², par conséquent indiquant une résistance à la rouille un peu plus grande.

En comparant toutes les variétés de mûriers par rapport à la variété témoin M-5, les variétés Wasamidori (1989-90) : Wasamidori, E-3, Local male, S-41, E-5, Hazaz, E-8 (1990-91), et Wasamidori, E-3, S-41, E-8, Z-2, E-5, Local male, Kajali (1991-92) ont une sensibilité voisine à celle de la variété témoin M-5, tandis que les autres variétés, Berhampore S-1 en 1989-90, KNG en 1990-91 et E-7 en 1991-92 se sont avérées plus sensibles lorsque nous les avons comparées à la variété M-5.

Dans le tableau I, les variétés 1 à 15 étaient les plus résistantes en comparaison avec M-5 avec un écart d'infestation allant de 9,37 à 13,29 mm² par cm² ; les 13 variétés dont le numéro de série va de 16 à 28 étaient plus résistantes que M-5 avec un écart d'infestation allant de 13,30 à 16,29 mm² par cm². Nous avons remarqué que les variétés Serpentina et Kaliakutahi sont semblables à la variété M-5 avec un écart d'infestation de 16,30 à 18,49 mm² par cm². Parmi les 45 variétés (tableau II), toutes ont une sensibilité plus grande face à la rouille lorsque nous les comparons à M-5 qui a 18,50 à 48,00 mm² de zones de lésions moyennes par cm².

Parmi les 45 variétés, trois d'entre elles (Wasamidori, E-3, S-41) sont au même niveau de sensibilité que la variété M-5 montrant un écart d'infestation de 18,49 à 20,89 mm² par cm². Vingt variétés dont le numéro de série va de 5 à 24 montrent un écart d'infestation de 20,90 à 26,99 mm² par cm², qui sont plus sensible en comparaison avec M-5 ; les treize variétés (numéro de série de 25 à 37) ont montré un écart d'infestation de 27,00 à 36,00 mm² par cm², ce qui indique une sensibilité plus élevée en comparaison avec M-5. Neuf variétés (numéros de série 38 à 46), ont montré une infestation supérieure à 36,01 mm² par cm² se révélant ainsi comme étant très sensible en comparaison avec M-5.

Malgré le fait d'avoir un grand nombre de lésions dans un cm² en comparaison avec la plante témoin M-5 (29 lésions), les variétés Kukupila (31 lésions), Ichihei akagi (29 lésions), S-30 (36 lésions), Mundargi (30 lésions), PKS 1-2 (32 lésions) et Z-10 (30 lésions) ont montré de plus petites zones d'infestation allant de 12,60 à 16,08 mm² par cm² (tableau III). Cela indique que les variétés précédentes étaient hypersensibles à la maladie de la rouille. L'expression de la maladie ainsi que sa

sévérité variant d'août à décembre, quelques variétés ayant montré des symptômes tôt et d'autres plus tard durant cette période (tableau IV).

Pendant le mois d'octobre, les variétés KGL-1, OPH-1, Haveri-II, Kukupila, KGL-2, PKS 1-2, S-30, Kamiso-402, S-54, Serpentina ont montré une zone d'infestation moins importante avec une sévérité par rapport à la plante témoin M-5. Les autres variétés RFS-135, KGL-3, Haveri-I, PKS 1-9, ZR-10, Goshocrami, PKS 1-12, Calabresa, Dehradun, Japan II ont montré des symptômes importants de la maladie de la rouille dès la fin du mois d'octobre au début du mois de novembre (tableau IV).

Les variétés Mundargi, E-1, E-4, Kaliakutahi ont montré des symptômes sévères de rouille pendant le mois de novembre. Seule, la variété English black s'est avérée être la moins sensible à la rouille avec un écart d'infestation de 7,00 à 8,22 mm² par cm² à partir de la fin du mois d'octobre jusqu'au début du mois de décembre. La variété Kairyoichinose a montré une sévérité de la rouille dès la fin d'octobre à début décembre. Les variétés Mizusuwa, Ichinose, Ichhehei akagi, Z-1 ont été infestées durant le mois de décembre.

La sévérité de la maladie et une plus grande zone d'infestation chez les différentes variétés (tableau II et IV) s'est produite pendant les mois d'octobre et de novembre. Les variétés E-5, Kanzan, Japan I, Kokuso-27, Schinichinose ont montré une atteinte par la rouille à la fin du mois de novembre jusqu'au début du mois de décembre. Les variétés Kajali, Dharwar ont exprimé une sévérité de la rouille lors du mois de décembre.

Cette étude indique que chez les variétés English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichhehei akagi, Z-1, il existe un délai dans l'expression de symptômes avec, cependant, une sévérité au mois de décembre. L'analyse des différences nous montre que les variétés contribuent d'une manière significative à la différence par rapport à la résistance à la rouille. Cela a été confirmé par une zone moyenne d'infestation à la rouille de chaque variété de mûrier dont on a fait la moyenne par rapport à la sévérité sur une période de trois ans. Les différences de la sévérité de la rouille parmi les variétés et les différences observées entre 1989 et 1992 peuvent être considérées comme mesure de variation temporelle due aux facteurs temps. Cela révèle l'ampleur de la composante environnementale en réponse à la maladie de la rouille chez les différentes variétés de mûriers.

DISCUSSION

La variation du degré de sensibilité à la rouille chez les différentes variétés évaluées peut être due à la variabilité génétique des mûriers, la variation des conditions climatiques et l'existence de différents types de rouille.

Les variétés de mûrier, English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichhehei akagi et E-1 ont développé des symptômes de la rouille moins rapidement que les autres variétés et cela est dû à plusieurs mécanismes. La résistance, consistant en la lente progression de la rouille chez l'*Avena sterilis*, peut être due à (i) une réduction de la pénétration de l'hôte, (ii) un développement réduit du mycelium chez l'hôte, (iii) une augmentation du temps de l'éruption des pustules et (iv), une réduction dans la production d'urédiniospores (Sztejnberg & Wahl 1976). Il a été suggéré que ce genre de résistance n'est pas spécifique à cette variété et peut fournir une résistance durable (Cladwell 1968 ; Van der Plank 1968).

La réduction de la germination d'urédiniospores et la formation d'appressorium contribue aussi à baisser le niveau de pénétration et donc une résistance qui consiste en une progression lente de la rouille. La différence entre le temps pour l'éruption des pustules et la durée de la formation d'urédiniospores est à étudier sur toutes les variétés. Cependant, après observation, il semblerait que la résistance existe chez le mûrier dans une forme de réaction hypersensible. Certaines des variétés testées, English black, Goshocrami, Calabresa, Mizusuwa, Ichinose, Ichhehei akagi, Kamiso-402, Kairyoichinose et Japan II ont montré une résistance à la maladie de la rouille malgré le fait qu'elles aient poussé dans un milieu tropical. On attribue cela au climat tempéré, à une importante humidité et des pluies modérées d'août à décembre. Certaines des variétés tropicales et subtropicales telles

que KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri-II, Kukupila, KGL 2, KGL 3, PKS 1-2, Haveri I, S-30, Mundargi, PKS 1-12, Z-1, S-54, PKS 1-9 et E-1 ont montré une résistance à la maladie de la rouille en s'acclimatant au climat tropical. Donc, ces variétés sont utiles à l'amélioration du mûrier à travers la culture de plantes résistantes à la maladie. Les données indiquent que la fréquence de la rouille et sa gravité sont en corrélation avec les données météorologiques. Une température de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ (pendant les mois d'août et décembre), l'humidité relative entre 70-90 % et les pluies jusqu'à 30 cm distribuées sur le mois, déclenchent la maladie de la rouille. Cependant, de fortes pluies mènent à un effet négatif sur la sévérité de la maladie, malgré une température et une humidité relative idéales, par le lavage de l'inoculum de la plante hôte. Une période d'incubation plus longue, des pustules moins nombreuses au cm^2 et une taille de pustule réduite chez les variétés de froment ont été associées aux caractéristiques d'une plus lente progression de la rouille (Ohm & Shaner 1976 ; Kuhn et coll., 1978 et Shaner et coll., 1978).

La lente progression de la rouille du froment tue les urédiniospores produites (Hcagle & Moore 1970). Les variétés de mûriers, English black, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Z-1, Dharwar & Kajali montrent qu'une caractéristique de résistance lente peut être utilisée dans le breeding pour la résistance de la maladie.

CONCLUSION

La rouille sur les feuilles de mûriers causé par *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et coll., survient comme les épidémies, de septembre à février, ce qui entraîne une réduction de biomasse par une défoliation prématurée. Les variétés English black, Goshocerami, Calabresa, Mizusuwa, Ichinose, Ichehei akagi, Kamiso-402, Kairyoichinose, Japan II, KGL-1, OPH-1, RFS-135, Haveri II, Kukupila, KGL-3, KGL-2, PKS 1-2, Haveri I, S-30, Mundargi, PKS 1-12, S-54, PKS 1-9 sont recommandées pour le breeding de variétés résistantes à la maladie de la rouille.

SEASONAL LIFE TABLE OF THE INDIAN WILD TASAR SILKMOTH *ANTHERAEA PAPHIA* LINN. (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)

B.K. NAYAK & M.C. DASH

1. House No. VII-M-88, Shailashri Vihar, Bhubaneswar - 751016, Orissa, India.
2. School of Life Sciences, Sambalpur University, Jyoti Vihar, Burla, India.

INTRODUCTION

Life table studies on tasar silkmoth are of importance from management view point and to assess the role of different environment factors on its life cycle. Climatic factors like photoperiod, temperature, relative humidity and food etc. are important components of the environment influencing its chance of surviving and multiplying by modifying its fecundity, longevity and speed of development. Life table studies can predict the number of silkmoths surviving at a particular time under field conditions and hence control measures against predators and parasites can be taken.

The life cycle of the tasar silkmoth includes distinct discrete attributes like egg, instar (larvae), pupa and adult stages and individuals reproducing only once during their life time.

In other words adults die after laying eggs which hatch to form the successive generation. On an altitudinal gradient with differential photoperiod and temperature conditions, *Antheraea paphia* exhibits one (univoltine), two (bivoltine) and three (trivoltine) generations (Nayak & Dash, 1991). Hence life table studies, in different seasons, will provide valuable information.

Despite many applications and having much economic importance, it is very surprising to note that no efforts have been made to study quantitatively the life table and population dynamics of the tasar silkmoth, *A. paphia*. Mishra and Joshi (1980), Joshi (1984) and Joshi and Misra (1985) have studied population dynamics of eri silk insect *Phylosamia ricini* Hutt. taking season and varieties of food as the variables. The present study deals with the life table analysis of *A. paphia* in different rearing seasons of the year.

MATERIALS AND METHODS

1. Maintenance of generation :

From 1990 to 1994, three sets of experiments were carried out in 15 successive generations in three rearing seasons i.e. rainy, autumn, winter at the *State Tasar Research Farm*, Durgapur in the Mayurbhanj district, Orissa, India. One set of experiment consisted of 1000 healthy eggs laid on the same day of *A. paphia* in five replications (Southwood, 1966), having 200 eggs (= 1 DFL) in each replication; since all the rearers and sericologists always use the term DFL (Disease free laying) as the unit for healthy eggs in sericulture and the tasar crop productivity is being assessed in terms of DFL. As per practice rearing was conducted outdoors on *Terminalia alata* as the food plant. On the basis of previous recommendations, tender leaves were fed to the first and second instar larvae, semi-matured leaves to the third instar larva and matured leaves were fed to the fourth and fifth instar larvae. Suitable rearing and grainage (emergence, mating and egg laying) procedures were followed as per the package of practices recommended by Jolly *et al.* (1979) and Nayak (1988).

2. Mortality at every stage :

Mortality of *A. paphia* was recorded at every stage for each generation by simple counting of the live population. Pupal mortality was calculated from the emergence of the adult moths. The dead individuals of all the developing stages were examined thoroughly to find out the reason for the mortality, but the reason of mortality for unhatched eggs, whether due to non-fertilisation or due to embryo death at an early stage could not be studied. Survival rate at every stage of tasar silkmoth was assessed according to Harcourt (1969).

3. Fertility of the female moth :

On emergence from cocoons coupling took place inside the grainage house where the cocoons were preserved in garlands. Out of the total coupling the number of fertility of female moths and average number of eggs laid were recorded.

4. Recording of environmental parameters:

Environmental parameters were observed daily for five years from 1990-1994 regarding temperature, humidity, rainfall, duration of sunshine and day length. The observatory was installed at well exposed level spots of 54 m (N-S) by 36 m (E-W) away from high hills, buildings, water channels, tall trees and dense forests. The air temperature was measured by maximum-minimum thermometer placed inside a Stevenson's screen at 1.3 m, above the ground level. The humidity was measured with the help of a hygrometer exposed in a Stevenson's screen. The rainfall was measured with the help of a rain gauge erected on a 0.6 × 0.6 × 0.6 m concrete foundation. The duration of the sunshine was recorded with the help of a sunshine recorder erected on a solid masonry pillar at a height of 3 m above the ground and the minimum radiation value for sunshine recorded was about 0.22-0.4 cal/cm²/min. The day length was calculated from the timing of sunset to sunrise which were related to the visibility of the upper beam of the sun on the horizon. From these five years of observation season-wise values of the above parameters were calculated.

5. Construction of life table :

A life table is primarily a device for portraying the survival experience of a group of individuals. The basic variables of a life table are time or age (x) and the life table function l_x . This function equals the proportion of a cohort of individuals born simultaneously at time (age) zero, that still survive at time (age) x . A cohort or horizontal life table is calculated by recording the number of survivors at successive times (ages) until all members of a cohort are dead. Based upon the above idea, mathematical models were developed by Deevey (1947). The procedures given by Southwood (1966) were used to represent the several derived variables of the life table of tasar silkmoth.

1. The pivotal age for the age class in days = x .
2. The number surviving at the beginning of age class x which is the probability of surviving beyond $x = l_x$.
3. The unit survival rate l_x was calculated as a fraction of one = l_{x_1}
4. The number of dying (mortality) during the age interval $x = d_x$
 $d_x = l_x - l_{x+1}$
5. The probability of dying in the interval ($x, x+1$), given that the individual survives at least to x . It is also known as the mortality rate = q_x

$$q_x = \frac{d_x}{l_x}$$

6. Actually all the individuals do not die suddenly at the end of the age class interval as it is shown in the life table for the purpose of calculation. The mortality continues in a random manner all

through the interval. Thus the number of animal surviving at middle point of class interval between age x and $x + 1 = L_x$

$$L_x = \int_x^{x+1} (l_x) d_x$$

But if the age intervals are reasonably small, it may be found from

$$L_x = \frac{l_x + l_{(x+1)}}{2}$$

7. Population is dynamic, because of natality, mortality, migration etc. When a number of individuals crosses the age class interval, the place is immediately taken up by another number of individuals who have qualified from the lower class interval. Thus at the upper threshold of the class interval, there are not only the numbers shown as l_x for that class interval, but also the batch that has passed through this class interval. Thus the total number of individual who have lived all the class interval earlier was the T_x . In other words, total life time remaining to individuals alive at x (L_x) is the sum of their individual life times.

$$T_x = \sum_{i=x}^w (L_i) \text{ or } T_x = L_x + L_{x+1} + L_{x+2} + \dots + L_w$$

Where 'w' was the time (age) when all individuals were dead. This statistic was computed from the bottom of the L_x column upwards carrying the running cumulative total right to the top. This cumulative total at the top of the T_x column represents the population that has lived the entire lifespan from which the expectancy of life e_x was calculated.

8. The life expectancy of an individual at $x = e_x$
It is sometimes called the mean residual life time.

$$e_x = \frac{\int_x^w l_x d_x}{L_x} = \frac{T_x}{L_x}$$

9. Life expectancy is simply how long an individual is expected to live given that it survived until x . Finally the hazard function was the instantaneous rate of death at mid point of $(x, x+1)$ (i.e. x') given that the individual survived until x' .

The hazard rate = hx'

$$hx' = hx' = \frac{2q_x}{2 - q_x}$$

Hazard rate can also be called the age specific death rate.

6. Construction of fertility table :

Life tables are important summaries of population data but they lack information on the equally important attributes of reproduction. To incorporate reproduction, life tables are expanded into fecundity tables. Fertility can be used instead of fecundity as it refers to live births (Southwood, 1966).

A fertility table was constructed by preparing a life table as per Joshi (1984) and Joshi and Mishra (1985) with x and l_x as before, but the L_x column referred entirely to females, i.e. the number of females alive during a given age interval as a fraction of an initial population of one.

1. Age specific fertility or natality rate = m_x

It is the number of eggs laid (offspring born) in unit time to an individual in a population and is determined by dividing the number of eggs laid at x by the total number of females alive at x .

2. Total number of eggs laid by an unit female over her life time was the potential fecundity

$$pf = \sum m_x = p_f$$

3. The net replacement (reproduction) rate of the female population = R_0

It is the product of average number of eggs produced (natality rate) by the females surviving at the age l_{x_1}

$$R_0 = l_{x_1} \cdot m_x$$

4. The total replacement made by an average female from each generation = R_0 .

It would be the carrying capacity of the average of the tasar silkmoth under specified environmental conditions.

5. Innate capacity for increase or maximum intrinsic rate of increase = R_m

It would summarise the physiological qualities of the tasar silkmoth with respect to its capacity to increase in number during one generation time (T) which is mathematically determined by Dublin and Lotka (1925) and the equation is:

$$T = \frac{\sum (l_x \cdot m_x \cdot x)}{\sum (l_x \cdot m_x)}$$

$$\text{Thus } R_m = \frac{\text{Log}_e \cdot R_0}{T}$$

6. The annual Biotic Potential = BP

$$BP = PZ_n$$

Where P is the potential fecundity and Z_n is the number of generations in a year.

7. Comparison of mortality factors within a generation :

1. Apparent mortality (AM) is the measured mortality, the number dying as a percentage of the numbers entering that stage, i.e. d_x as a percentage of l_x .

$$AM = \frac{d_x}{l_x} \times 100$$

2. Real mortality (RM) is calculated on the basis of the population density at the beginning of the generation.

$$RM = \frac{d_x}{l_c} \times 100$$

Where l is the size of the cohort at the beginning of the generation.

3. Indispensable (irreplaceable) mortality (IM) is that part of the generation mortality that would not occur, should the mortality factor in question be removed from the life system, after allowance is made for the action of the subsequent mortality factors.
4. Mortality ratio (MR) represents the increase in population that would have occurred if the factor in the question had been absent. If the final population is multiplied by this ratio, then the resulting value represents individuals of the indispensable mortality is due to that factor.

$$MR = \frac{d_x}{l_{x+1}}$$

RESULTS

1. Survivorship (l_x):

Sex ratio, rates of survival, death and birth can reasonably be assumed to be the function of the environmental conditions, since the same food i.e. *T. alata* leaves was given in all the cases. Comparison of the Table I, II and III showed that the survival of the insect from egg to pupa stage was the highest during the winter season. The number of survivors reaching the adult stage was more or less the same in all the seasons i.e. 46, 44 and 45 out of 200 in each case during rainy, autumn, winter seasons respectively.

2. Mortality factors :

Mortality factors included mortality (d_x), rate of mortality (q_x), percentage of apparent mortality (AM), percentage of real mortality (RM), indispensable mortality (IM), mortality : survivorship ratio (M:S) and the hazard rate (h_x). Mortality factors were always comparatively higher in egg, hatching, fourth instar and lower in third instar, prepupa stage (Table IV). In fifth instar larvae, they were about 2-5 times more during autumn and winter seasons than it was in rainy.

3. Life expectancy (e_x) :

The life expectancy in different developmental stages of *A. paphia* showed that it was highest in winter season except the adult stage which was more or less the same in all the seasons. During the rainy season (Table I), the life expectancy increased after hatching. It was longest in third instar (35.58 days) after which it was gradually falling with increase in age. During the autumn season, the life expectancy was the longest in the beginning of the fifth instar (32.40 days) after which it gradually fell with the increase in age. During the winter season, the life expectancy gradually increased after the egg stage and was the highest at the end of the prepupal stage (161.06 days) and then it gradually decreased.

4. Net reproduction rate (R_0) :

R_0 was maximum (39.34) in the rainy season (Table VIII), minimum (37.97) during the autumn season (Table IX) and medium during the winter season (Table X), indicating that the maximum population turnover occurred during the rainy season followed by the winter and autumn seasons in descending order. It was also seen that R_0 was maximum on the first day of oviposition and the value reduced there after.

5. Innate capacity for increase (R_m):

This gave an instantaneous rate of population increase which was mathematically computed as the mean period elapsing from birth of parent to birth of offspring (T). Value of R_m (Table 11) was lowest during winter (0.343) and highest during the rainy (0.880) and medium during autumn (0.789). The lowest generation time was during the rainy season (67.31d) followed by the autumn season (72.10d) and the minimum value was during winter (230.15d).

Table I. Life table of Indian tropical tasar silkmoth *A. paphia* reared during rainy season at 51-300 m. ASL.

Tableau I. Tableau de vie du papillon à soie tasar tropical indien A. paphia élevé pendant la saison des pluies entre 51 - 300 m au-dessus du niveau de la mer.

Life stage	Age in days	Number of survivors	Fraction survivors	Mortality rate	Mortality rate	Average alive	Total alive	Life expectancy	Hazard rate
<i>Stade de vie</i>	<i>Age en jours (X)</i>	<i>Nbre de survivants (lx)</i>	<i>Part de survivants (lx₁)</i>	<i>Mortalité (dx)</i>	<i>Taux de mortalité (qx)</i>	<i>Moyenne en vie (Lx)</i>	<i>Totalité en vie (Tx)</i>	<i>Expérance de vie (ex)</i>	<i>Taux de risque (hx)</i>
Egg / Oeuf	0	200	1.00	0	0.00	200	1604	32.08	0.00
Egg / Oeuf	4	200	1.00	46	0.23	177	1404	28.08	0.26
Hatching / Ecllosion	8	154	0.77	20	0.13	144	1227	31.87	0.14
I-instar / 1er âge	12	134	0.67	20	0.15	124	1083	32.33	0.16
II-instar / 2ème âge	16	114	0.57	18	0.16	105	959	33.65	0.17
III instar / 3ème âge	20	96	0.48	8	0.08	92	854	35.58	0.09
IV instar / 4ème âge	24	88	0.44	8	0.09	84	762	34.64	0.10
IV instar / 4ème âge	28	80	0.40	6	0.08	77	678	33.90	0.08
V-instar / 5ème âge	32	74	0.37	4	0.05	72	601	32.49	0.06
V-instar / 5ème âge	36	70	0.35	2	0.03	69	529	30.23	0.03
Prepupa / Pre-chrysalide	40	68	0.34	0	0.00	68	460	27.06	0.00
Prepupa/Pre-chrysalide	44	68	0.34	4	0.06	66	392	23.06	0.06
Pupa / Chrysalide	48	64	0.32	0	0.00	64	326	20.38	0.00
Pupa / Chrysalide	52	64	0.32	0	0.00	64	262	16.38	0.00
Pupa / Chrysalide	56	64	0.32	0	0.00	64	198	12.38	0.00
Pupa / Chrysalide	60	64	0.32	18	0.28	55	134	8.38	0.33
Adult / Adulte	64	46	0.23	6	0.13	43	79	6.87	0.14
Adult / Adulte	68	40	0.20	28	0.70	26	36	3.60	1.08
Adult / Adulte	72	12	0.06	8	0.67	8	10	3.33	1.00
Adult / Adulte	76	4	0.02	4	1.00	2	2	2.00	2.00

Table II. Life table of Indian tropical tasar silkmoth *A. paphia* reared during autumn season at 51-300 m above sea level.

Tableau II. Tableau de vie du papillon à soie tasar tropical Indien A. paphia élevé pendant l'automne à 51-300 m au-dessus du niveau de la mer.

Life stage	Age in days	Number of survivors	Fraction survivors	Mortality rate	Mortality rate	Average alive	Total alive	Life expectancy days	Hazard rate
<i>Stade</i>	<i>Age en jours (X)</i>	<i>Nbre de survivants (l_x)</i>	<i>Part de survivants (l_x / l₀)</i>	<i>Mortalité (d_x)</i>	<i>Taux de mortalité (q_x)</i>	<i>Moyenne en vie (L_x)</i>	<i>Totalité en vie de vie (T_x)</i>	<i>Expérance en vie (e_x)</i>	<i>Taux de risque (h_x)</i>
Egg / Oeuf	0	200	1.00	0	0.00	200.0	1577.0	31.54	0.00
Egg / Oeuf	4	200	1.00	38	0.19	181.0	1377.0	27.54	0.21
Hatching / Ecllosion	8	162	0.81	23	0.14	150.5	1196.0	29.53	0.15
I-instar / Age-I	12	139	0.70	20	0.14	129.0	1045.5	30.09	0.16
II-instar / Age-II	16	119	0.60	17	0.14	110.5	916.5	30.81	0.15
III-instar / Age-III	20	102	0.51	12	0.12	96.0	806.0	31.61	0.13
IV-instar / Age IV	24	90	0.45	10	0.11	85.0	710.0	31.56	0.12
IV-instar / 4ème âge	28	80	0.40	11	0.14	74.5	625.0	31.25	0.15
V-instar / 5ème âge	32	69	0.35	9	0.13	64.5	550.5	31.91	0.14
V-instar / 5ème âge	36	60	0.30	6	0.10	57.0	486.0	32.40	0.11
Pre-pupa / Pre-chrysalide	40	54	0.27	0	0.00	54.0	429.0	31.78	0.00
Pre-pupa / Pre-chrysalide	44	54	0.27	5	0.09	51.5	375.0	27.78	0.10
Pupa / Chrysalide	48	49	0.25	0	0.00	49.0	323.5	26.41	0.00
Pupa / Chrysalide	52	49	0.25	0	0.00	49.0	274.5	22.41	0.00
Pupa / Chrysalide	56	49	0.25	0	0.00	49.0	225.5	18.41	0.00
Pupa / Chrysalide	60	49	0.25	0	0.00	49.0	176.5	14.41	0.00
Pupa / Chrysalide	64	49	0.25	5	0.10	46.5	127.5	10.41	0.11
Adult / Adulte	68	44	0.22	8	0.18	40.0	81.0	7.36	0.20
Adult / Adulte	72	36	0.18	20	0.56	26.0	41.0	4.56	0.77
Adult / Adulte	76	16	0.08	9	0.56	11.5	15.0	3.75	0.78
Adult / Adulte	80	7	0.04	7	1.00	3.5	3.5	2.00	2.00

Table III. Life table of Indian tropical tasar silkmoth *A. paphia* reared in winter season at 51-300 m ASL.*Tableau III. Tableau de vie du papillon à soie tasar tropical indien A. paphia élevé pendant l'hiver à 51-300m au-dessus du niveau de la mer.*

Life stage	Age in days	Number of survivors	Fraction survivors	Mortality	Mortality rate	Average alive	Total alive	Life expectancy	Hazard rate
<i>Stade de vie</i>	<i>Age en jours (X)</i>	<i>Nbre de survivants (l_x)</i>	<i>Part de survivants (l_x/l₀)</i>	<i>Mortalité (d_x)</i>	<i>Taux de mortalité (q_x)</i>	<i>Moyenne en vie (L_x)</i>	<i>Totalité en vie de vie (T_x)</i>	<i>Expérance de vie (e_x)</i>	<i>Taux de risque (h_x)</i>
Egg / Oeuf	0	200	1.00	0	0.00	200.0	5316.0	106.32	0.00
Egg / Oeuf	4	200	1.00	26	0.13	187.0	5116.0	102.32	0.14
Hatching / Eclosion	8	174	0.87	18	0.10	165.0	4929.0	113.31	0.11
I Instar / Age I	12	156	0.78	12	0.08	150.0	4764.0	122.15	0.08
II Instar / Age II	16	144	0.72	7	0.05	140.5	4614.0	128.17	0.05
II Instar / Age II	20	137	0.69	10	0.07	132.0	4473.5	130.61	0.08
III Instar / Age III	24	127	0.64	7	0.06	123.5	4341.5	136.74	0.06
III Instar / Age III	28	120	0.60	5	0.04	117.5	4218.0	140.60	0.04
IV Instar / Age IV	32	115	0.58	9	0.08	110.5	4100.5	142.63	0.08
IV Instar / Age IV	36	106	0.53	5	0.05	103.5	3990.0	150.57	0.05
V Instar / Age V	40	101	0.51	4	0.04	99.0	3886.5	153.92	0.04
V Instar / Age V	44	97	0.49	3	0.03	95.5	3787.5	156.19	0.03
V Instar / Age V	48	94	0.47	3	0.03	92.5	3692.0	157.11	0.03
V Instar / Age V	52	91	0.46	2	0.02	90.0	3599.5	158.22	0.02
V Instar / Age V	56	89	0.45	4	0.04	87.0	3509.5	157.73	0.05
Prepupa / Pre-chrysalide	60	85	0.43	0	0.00	85.0	3422.5	161.06	0.00
Prepupa /Pre-chrysalide	64	85	0.43	0	0.00	85.0	3337.5	157.06	0.00
Pre pupa /Pre-chrysalide	68	85	0.43	5	0.06	82.5	3252.5	153.06	0.06
Pupa / Chrysalide	72	80	0.40	0	0.00	80.0	3170.0	158.50	0.00

Table III (Continued).

Tableau III (Suite).

Life stage	Age in days	Number of survivors	Fraction survivors	Mortality	Mortality rate	Average alive	Total alive	Life expectancy days	Hazard rate
<i>Stade de vie</i>	<i>Age en jours (X)</i>	<i>Nbre de survivants (lx)</i>	<i>Part de survivants (lx₁)</i>	<i>Mortalité (d_x)</i>	<i>Taux de mortalité (q_x)</i>	<i>Moyenne en vie (L_x)</i>	<i>Totalité en vie de vie (T_x)</i>	<i>Expérance de vie (jours) (e_x)</i>	<i>Taux de de risque (h_x)</i>
Pupa / Chrysalide	76	80	0.40	0	0.00	80.0	3090.0	154.50	0.00
Pupa / Chrysalide	80	80	0.40	0	0.00	80.0	3010.0	150.50	0.00
Pupa / Chrysalide	84	80	0.40	0	0.00	80.0	2930.0	146.50	0.00
Pupa / Chrysalide	88	80	0.40	0	0.00	80.0	2850.0	142.50	0.00
Pupa / Chrysalide	92	80	0.40	0	0.00	80.0	2770.0	138.50	0.00
Pupa / Chrysalide	96	80	0.40	0	0.00	80.00	2690.0	134.50	0.00
Pupa / Chrysalide	100	80	0.40	0	0.00	80.0	2610.0	130.50	0.00
Pupa / Chrysalide	104	80	0.40	0	0.00	80.0	2530.0	126.50	0.00
Pupa / Chrysalide	108	80	0.40	0	0.00	80.0	2450.0	122.50	0.00
Pupa / Chrysalide	112	80	0.40	0	0.00	80.0	2370.0	118.50	0.00
Pupa / Chrysalide	116	80	0.40	0	0.00	80.0	2290.0	114.50	0.00
Pupa / Chrysalide	120	80	0.40	0	0.00	80.0	2210.0	110.50	0.00
Pupa / Chrysalide	124	80	0.40	0	0.00	80.0	2130.0	106.50	0.00
Pupa / Chrysalide	128	80	0.40	0	0.00	80.0	2050.0	102.50	0.00
Pupa / Chrysalide	132	80	0.40	0	0.00	80.0	1970.0	98.50	0.00
Pupa / Chrysalide	136	80	0.40	0	0.00	80.0	1890.0	94.50	0.00
Pupa / Chrysalide	140	80	0.40	0	0.00	80.0	1810.0	90.50	0.00
Pupa / Chrysalide	144	80	0.40	0	0.00	80.0	1730.0	86.50	0.00
Pupa / Chrysalide	148	80	0.40	0	0.00	80.0	1650.0	82.50	0.00
Pupa / Chrysalide	152	80	0.40	0	0.00	80.0	1570.0	78.50	0.00

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

Life stage	Age in days	Number of survivors	Fraction survivors	Mortality	Mortality rate	Average alive	Total alive	Life expectancy days	Hazard rate
<i>Stade de vie</i>	<i>Age en jours (X)</i>	<i>Nbre de survivants (lx)</i>	<i>Part de survivants (lx₁)</i>	<i>Mortalité (dx)</i>	<i>Taux de mortalité (qx)</i>	<i>Mayenne en vie (Lx)</i>	<i>Totalité en vie de vie (Tx)</i>	<i>Expérance de vie (jours) (ex)</i>	<i>Taux de de risque (hx)</i>
Pupa / <i>Chrysalide</i>	156	80	0.40	0	0.00	80.0	1490.0	74.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	160	80	0.40	0	0.00	80.0	1410.0	70.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	164	80	0.40	0	0.00	80.0	1330.0	66.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	168	80	0.40	0	0.00	80.0	1250.0	62.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	172	80	0.40	0	0.00	80.0	1170.0	58.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	176	80	0.40	0	0.00	80.0	1090.0	54.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	180	80	0.40	0	0.00	80.0	1010.0	50.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	184	80	0.40	0	0.00	80.0	930.0	46.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	188	80	0.40	0	0.00	80.0	850.0	42.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	192	80	0.40	0	0.00	80.0	770.0	38.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	196	80	0.40	0	0.00	80.0	690.0	34.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	200	80	0.40	0	0.00	80.0	610.0	30.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	204	80	0.40	0	0.00	80.0	530.0	26.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	208	80	0.40	0	0.00	80.0	450.0	22.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	212	80	0.40	0	0.00	80.0	370.0	18.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	216	80	0.40	0	0.00	80.0	290.0	14.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	220	80	0.40	0	0.00	80.0	210.0	10.50	0.00
Pupa / <i>Chrysalide</i>	224	80	0.40	35	0.44	62.5	130.0	6.50	0.56
Adult / <i>Adulte</i>	228	45	0.23	5	0.11	42.5	67.5	6.00	0.12
Adult / <i>Adulte</i>	232	40	0.20	35	0.88	22.5	25.0	2.50	1.56
Adult / <i>Adulte</i>	236	5	0.03	5	1.00	2.5	2.5	2.00	2.00

Table IV. Comparison of mortality factors within a generation of tasar silkmoth *A. paphia* reared in rainy season.

Tableau IV. Comparaison des facteurs de mortalité pour une génération du papillon à soie tasar A. paphia élevé pendant la saison des pluies.

Life stage	Number of survivors (I _x)	Mortality (d _x)	Apparent mortality (AM %)	Real mortality (RM %)	Indispensable mortality (IM%)	Mortality survival ratio (MR)
<i>Période de vie</i>	<i>Nombre de survivants (I_x)</i>	<i>Mortalité (d_x)</i>	<i>Mortalité apparente (AM %)</i>	<i>Mortalité réelle (RM %)</i>	<i>Mortalité indispensable (IM%)</i>	<i>Ratio mortalité / survivants (MR)</i>
Egg / Oeuf	200	46	32.00	23.00	6.87	0.30
Hatching / Eclosion	154	20	12.98	10.00	8.24	0.15
I-instar / Age I	134	20	14.93	10.00	4.35	0.18
II-instar / Age II	114	18	15.79	9.00	4.31	0.19
III-instar / Age III	96	8	8.33	4.00	2.09	0.09
IV-instar / Age IV	88	14	15.91	7.00	4.35	0.19
V-instar / Age V	74	6	8.11	3.00	2.03	0.09
Prepupa / Prechrysalide	68	4	5.88	2.00	1.44	0.06
Pupa / Chrysalide	64	18	28.13	9.00	9.00	0.39
Adult / Adulte	46	46	100.00	23.00	23.00	00

Table V. Comparison of mortality factors within a generation of tasar silkmoth *A. paphia* reared in autumn season.*Tableau V. Comparaison des facteurs de mortalité à l'intérieur d'une génération du papillon à soie tasar *A. paphia* élevé pendant l'automne.*

Life stage	Number of survivors (lx)	Mortality (dx)	Apparent mortality (AM %)	Real mortality (RM %)	Indispensable mortality (IM %)	Mortality survival ratio (MR)
<i>Période de vie</i>	<i>Nombre de survivants (lx)</i>	<i>Mortalité (dx)</i>	<i>Mortalité apparente (AM %)</i>	<i>Mortalité réelle (RM %)</i>	<i>Mortalité indispensable (IM %)</i>	<i>Ratio mortalité / survivants</i>
Egg / <i>Ecllosion</i>	200	38	19.00	19.0	5.16	0.23
Hatching / <i>Ecllosion</i>	162	23	14.20	11.5	3.64	0.17
I-instar / <i>Age-I</i>	139	20	14.39	10.0	3.70	0.17
II-instar / <i>Age-II</i>	119	17	14.29	8.5	3.67	0.17
III-instar / <i>Age III</i>	102	12	11.76	6.0	2.94	0.13
IV-instar / <i>Age IV</i>	90	21	23.33	10.5	6.70	0.30
V-instar / <i>Age V</i>	69	15	21.74	7.5	6.11	0.28
Prepupa / <i>Pre-chrysalide</i>	54	5	9.26	2.5	2.25	0.10
Pupa / <i>Chrysalide</i>	49	5	10.20	2.5	2.50	0.11
Adult / <i>Adulte</i>	44	44	100.00	22.0	22.00	00

Table VI. Comparison of mortality factors within a generation of tasar silkmoth *A. mylitta* in winter season.*Tableau VI. Comparaison des facteurs de mortalité à l'intérieur d'une génération du papillon à soie tasar A. mylitta pendant l'hiver.*

Life stage	Number of survivors (lx)	Mortality (dx)	Apparent mortality (AM %)	Real mortality (RM%)	Indispensable mortality (IM %)	Mortality survival ratio (MR)
<i>Période de vie</i>	<i>Nombre de survivants (lx)</i>	<i>Mortalité (dx)</i>	<i>Mortalité apparente (AM %)</i>	<i>Mortalité réelle (RM %)</i>	<i>Mortalité indispensable (IM %)</i>	<i>Ratio mortalité survivants</i>
Egg / Oeuf	200	26	13.00	13.0	3.37	0.15
Hatching / Ecllosion	174	18	10.34	9.0	2.60	0.12
I Instar / Age I	156	12	7.69	6.0	1.88	0.08
II Instar / Age II	144	17	11.81	8.5	3.02	0.13
III Instar / Age III	127	12	9.45	6.0	2.35	0.10
IV Instar / Age IV	115	14	12.17	7.0	3.12	0.14
V Instar / Age V	101	16	15.84	8.0	4.25	0.19
Prepupa / Pre-chrysalide	85	5	5.88	2.5	1.41	0.06
Pupa / Chrysalide	80	35	43.75	17.5	17.50	0.78
Adult / Adulte	45	45	100.00	22.5	22.50	00

Table VII. Comparison of life table (mortality factors and life expectancy) of tasar silkmoth *A. paphia* reared in different seasons.

Tableau VII. Comparaison du tableau de vie (facteurs de mortalité et espérance de vie) du papillon à soie *A. paphia* élevé pendant différentes saisons.

Life stages Life table parameter	Season	Egg	Hatching	I Instar	II Instar	III Instar	IV Instar	V Instar	Prepupa	Pupa	Adult
<i>Périodes de vie</i> <i>Paramètre du tableau</i> <i>de vie</i>	<i>Saison</i>	<i>Oeuf</i>	<i>Ecllosion</i>	<i>1er</i> <i>âge</i>	<i>2ème</i> <i>âge</i>	<i>3ème</i> <i>âge</i>	<i>4ème</i> <i>âge</i>	<i>5ème</i> <i>âge</i>	<i>Pre-</i> <i>chrysalide</i>	<i>Pupe</i>	<i>Adulte</i>
Survivorship <i>Survie</i> (l_x)	Rainy / <i>Pluvieux</i>	200.00	154.00	134.00	114.00	96.00	88.00	74.00	68.00	64.00	46.00
	Autumn / <i>Automne</i>	200.00	162.00	139.00	119.00	102.00	90.00	69.00	54.00	49.00	44.00
	Winter / <i>Hiver</i>	200.00	174.00	156.00	144.00	127.00	115.00	101.00	85.00	80.00	45.00
Mortality (d_x) <i>Mortalité</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	46.00	20.00	20.00	18.00	8.00	14.00	6.00	4.00	18.00	46.00
	Autumn / <i>Automne</i>	38.00	23.00	20.00	17.00	12.00	21.00	15.00	5.00	5.00	44.00
	Winter / <i>Hiver</i>	26.00	18.00	12.00	17.00	12.00	14.00	16.00	5.00	35.00	45.00
Rate of mortality (q_x) <i>Taux de mortalité (q_x)</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	0.23	0.13	0.15	0.16	0.08	0.16	0.08	0.06	0.28	1.00
	Autumn / <i>Automne</i>	0.19	0.14	0.14	0.14	0.12	0.23	0.22	0.09	0.10	1.00
	Winter / <i>Hiver</i>	0.13	0.10	0.08	0.12	0.09	0.12	0.16	0.06	0.44	1.00
% of apparent mortality (AM %) <i>% de mortalité apparente</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	23.00	12.98	14.93	15.79	8.33	15.91	8.11	5.88	28.13	100.00
	Autumn / <i>Automne</i>	19.00	14.20	14.39	14.29	11.76	23.33	21.74	9.26	10.20	100.00
	Winter / <i>Hiver</i>	13.00	10.34	7.69	11.81	9.45	12.17	15.84	5.88	43.75	100.00
% of real mortality (RM %) <i>% de mortalité réelle</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	23.00	10.00	10.00	9.00	4.00	7.00	3.00	2.00	9.00	23.00
	Autumn / <i>Automne</i>	19.00	11.50	10.00	8.50	6.00	10.50	7.50	2.50	2.50	22.00
	Winter / <i>Hiver</i>	13.00	9.00	6.00	8.50	6.00	7.00	8.00	2.50	17.50	22.50
Indispensable mortality (IM) <i>Mortalité indispensable</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	6.87	8.24	4.35	4.31	2.09	4.35	2.03	1.44	9.00	23.00
	Autumn / <i>Automne</i>	5.16	3.64	3.70	3.67	2.94	6.70	6.11	2.25	2.50	22.00
	Winter / <i>Hiver</i>	3.37	2.60	1.88	3.02	2.35	3.12	4.25	1.41	17.50	22.50

Table VII (Continued).

Tableau VII (Suite).

Life stages Life table parameter	Season	Egg	Hatching	I Instar	II Instar	III Instar	IV Instar	V Instar	Prepupa	Pupa	Adult
<i>Périodes de vie</i> <i>Paramètre du tableau</i> <i>de vie</i>	<i>Saison</i>	<i>Oeuf</i>	<i>Eclosion</i>	<i>1er</i> <i>âge</i>	<i>2eme</i> <i>âge</i>	<i>3eme</i> <i>âge</i>	<i>4ème</i> <i>âge</i>	<i>5ème</i> <i>âge</i>	<i>Pre-</i> <i>chrysalide</i>	<i>Pupe</i>	<i>Adulte</i>
Mortality survival ratio (M:S ratio) <i>Ratio mortalité survie</i> <i>(Ratio M:S)</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	0.30	0.15	0.18	0.19	0.09	0.19	0.09	0.06	0.39	00
	Autumn / <i>Automne</i>	0.23	0.17	0.17	0.17	0.13	0.30	0.28	0.10	0.11	00
	Winter / <i>Hiver</i>	0.15	0.12	0.08	0.13	0.10	0.14	0.19	0.06	0.78	00
Hazard rate (h_x) <i>Taux de risque (h_x)</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	0.26	0.14	0.16	0.17	0.08	0.16	0.08	0.06	0.33	2.00
	Autumn / <i>Automne</i>	0.21	0.15	0.15	0.15	0.13	0.26	0.25	0.09	0.11	2.00
	Winter / <i>Hiver</i>	0.14	0.11	0.08	0.03	0.09	0.13	0.17	0.06	0.56	2.00
Life expectancy (e_x) <i>Espérance de vie</i>	Rainy / <i>Pluvieux</i>	32.08	31.87	32.33	33.65	35.58	34.64	32.48	27.06	20.37	6.87
	Autumn / <i>Automne</i>	31.54	29.53	30.09	30.81	31.61	31.56	31.91	31.77	26.41	7.36
	Winter / <i>Hiver</i>	106.32	113.31	122.15	128.17	136.74	142.63	153.92	161.06	158.50	6.00

Table VIII. Net reproduction (replacement) of tasar silkmoth *A. paphia* reared in rainy season.

Tableau VIII. Reproduction (remplacement) nette du papillon à soie tasar A. paphia élevé pendant la saison des pluies.

Actual age	Pivotal age (X)	Age specific survival rate (Female) (l_{x_1})	Natality rate (m_x)	Net productive rate ($R_0 = l_x \cdot m_x$)	($l_{x_1} \cdot m_{x \cdot x}$)
<i>Age réel</i>	<i>Age pivot (X)</i>	<i>Taux de survie spécifique à l'âge (Femelle) (l_{x_1})</i>	<i>Taux de natalité (m_x)</i>	<i>Taux productif net ($R_0 = l_x \cdot m_x$)</i>	
66	1	0.20	69.00	13.80	13.80
67	2	0.20	54.00	10.80	21.60
68	3	0.20	35.00	7.00	21.00
69	4	0.18	24.00	4.32	17.28
70	5	0.18	19.00	3.42	17.10
71	6	0.15	0.00	0.00	0.00
72	7	0.80	0.00	0.00	0.00
73	8	0.60	0.00	0.00	0.00
74	9	0.50	0.00	0.00	0.00
75	10	0.30	0.00	0.00	0.00
76	11	0.20	0.00	0.00	0.00
Total	Σ		201.00	39.34	90.78

$$T = \frac{\sum l_{x_1} \cdot m_{x \cdot x}}{\sum l_{x_1} \cdot m_x} = \frac{90.78}{39.34} = 2.3$$

$$= 65 + 2.31 = 67.31$$

Table IX. Net reproduction (replacement) rate of tasar silkmoth *A. mylitta* reared in autumn season.Tableau IX. Taux net de reproduction (remplacement) du papillon à soie tasar *A. mylitta* élevé pendant l'automne.

Actual age days	Pivotal age (X)	Age specific survival rate (Female)(l_{x_1})	Nativity rate (m_x)	Net reproductive rate	($l_{x_1} \cdot m_{x \cdot x}$)
<i>Age réel (jours)</i>	<i>Age pivot (X)</i>	<i>Taux de survie spécifique à l'âge (Femelle) (l_{x_1})</i>	<i>Taux de natalité (m_x)</i>	<i>Taux reproductif net ($R_0 = l_{x_1} \cdot m_x$)</i>	
70	1	0.21	50.00	10.50	10.50
71	2	0.21	35.00	7.35	14.70
72	3	0.18	32.00	5.76	17.28
73	4	0.18	25.00	4.50	18.00
74	5	0.18	24.00	4.32	21.60
75	6	0.17	22.00	3.74	22.44
76	7	0.09	13.00	1.17	8.19
77	8	0.09	7.00	0.63	5.04
78	9	0.06	0.00	0.00	0.00
79	10	0.06	0.00	0.00	0.00
80	11	0.05	0.00	0.00	
Total			208.00	37.97	117.75

$$T = \frac{\sum l_{x_1} \cdot m_{x \cdot x}}{\sum l_{x_1} \cdot m_x} = \frac{117.75}{37.97} = 3.10$$

$$= 69 + 3.10 = 72.10$$

Table X. Net reproduction (replacement) rate of tasar silkmoth *A. paphia* (reared) in winter season.*Tableau X. Taux de reproduction (remplacement) net du papillon à soie tasar *A. paphia* élevé pendant l'hiver.*

Actual age	Pivotal age (X)	Age specific survival rate (Female) (l_{x_1})	Nativity rate (m_x)	Net productive rate	($l_{x_1} \cdot m_x \cdot x$)
<i>Age réel</i>	<i>Age pivot (X)</i>	<i>Taux de survie spécifique à l'âge (Femelle) (l_{x_1})</i>	<i>Taux de natalité (m_x)</i>	<i>Taux productif net ($Ro = l_{x_1} \cdot m_x$)</i>	
230	1	0.20	123.00	24.60	24.60
231	2	0.20	41.00	8.20	16.40
232	3	0.20	26.00	5.20	15.60
233	4	0.19	5.00	0.95	3.80
234	5	0.15	0.00	0.00	0.00
235	6	0.09	0.00	0.00	0.00
236	7	0.01	0.00	0.00	0.00
Total			195.00	38.95	60.40

$$T = \frac{\sum l_{x_1} \cdot m_x \cdot x}{\sum l_{x_1} \cdot m_x} = \frac{60.40}{38.95} = 1.55$$

$$= 229 + 1.55 = 230.15$$

Table XI. Comparative performance of life expectancy (e_x), net replacement rate (R_0), innate capacity for increase (R_m), potential fecundity (P_f) and annual biotic potential (B_p) of tasar silkmoth *A. paphia* reared in different seasons.

*Tableau XI. Performance comparative par rapport à l'espérance de vie (e_x), au taux de remplacement net (R_0), à la capacité innée d'augmentation (R_m), à la fécondité potentielle (P_f) et au potentiel biotique annuel (B_p) du papillon à soie tasar *A. paphia* élevé pendant différentes saisons.*

Season	Life expectancy (days) (e_x)	Net reproduction rate (R_0)	Mean length of duration (T)	Innate capacity for increase (R_m)	Potential fecundity (P_f)	Annual biotic potential (B_p)
Saison	Espérance de vie jours (e_x)	Taux net de reproduction (R_0)	Durée moyenne jours (T)	Capacité innée d'augmentation (R_m)	Potentiel de fécondité (P_f)	Potentiel biotique annuel (B_p)
Rainy / Pluvieux	32.08	39.34	67.31	0.880	201	12060
Autumn / Automne	31.54	37.97	72.10	0.789	208	13104
Winter / Hiver	106.32	38.95	230.15	0.343	195	11700

DISCUSSION

1. Survivorship (l_x):

Rearing of the tasar silkmoth during the winter season was carried out during the month of November-December when the climatic condition was cold with optimum humidity (mean maximum temperature 30.10 °C, mean minimum temperature 16.72°C, mean of mean temperature 23.45 °C, highest temperature 33.20 °C and lowest temperature 15.21° C with 10.78 hrs of day length, 82.83% humidity, 36.46 mm rainfall) (Table XII and XIII). The highest survivorship of eggs to pupa stage in winter season was due to the prevalence of cooler climatic condition.

Winter rearing was completed by the end of December and then the pupa underwent diapause from January to June. The climatic condition was cooler in the month of January (mean maximum temperature 25.97 °C, mean minimum temperature 14.24 °C, mean of mean temperature 20.11 °C, highest temperature 31.33°C, lowest temperature 13.27 °C with 9.65 hrs of day length, 83.99% humidity and 6.6 mm rainfall) (Table XII and XIII).

Spring prevailed during the month of February and March when the climatic condition started to warm up and dry (mean maximum temperature 34.17 °C, mean minimum temperature 17.28 °C, mean of mean temperature 25.73 °C, highest temperature 36.9 °C, lowest temperature 15.75 °C with 10.23 hrs of day length, 70.89% humidity with 34.34 mm rainfall) (Table XII and XIII). Summer prevailed during April to May when the climatic condition was very hot and humid (mean maximum temperature 40.05 °C, mean minimum temperature 22.19 °C, mean of mean temperature 31.12 °C, highest temperature 45.11 °C, lowest temperature 21.08 °C with 12.58 hrs of day length, 75.09% of humidity and 70.14 mm rainfall) (Table XII and XIII). June was the season of pre-rain when the temperature recedes slightly with increase in day length, humidity and rainfall (mean maximum

temperature 37.47 °C, mean minimum temperature 23.47 °C, mean of mean temperature 30.47 °C, highest temperature 41.76 °C, lowest temperature 22.30 °C with 14.25 hrs of day length, 85.13% humidity and 156.80 mm of rainfall (Table XII and XIII) and the moth started emerging.

Thus the pupa experienced extremes of temperature (13.27 °C to 45.11 °C), humidity (70.09% to 85.13%), day length (9.65 to 14.25 hrs per day) and rainfall (6.60 to 156.80 mm) (Tables XII and XIII). So the highest mortality at pupal stage occurred due to cold and hot hardiness which was recorded conveniently at the time of moth emergence. The highest survivorship during the winter season rearing appears to be destined to meet the adverse climatic stress occurred during the diapause period extended over a period of six months covering cold winter, spring, summer and the pre-rain season. Thus the highest survivorship of silkworm during winter rearing appeared to help the population pool of the species to be maintained at a particular level from generation to generation. The climatic condition which prevailed during the rainy season was hot and humid (mean max. temp. 35.14 °C, mean minimum temperature 22.78 °C, mean of mean temperature 28.96 °C, highest temperature 38.33 °C, lowest temperature 21.53 °C with 13.12 hrs of day length, 89.64% humidity and 505.86 mm rainfall) (Table XII and XIII). Thus in the rainy season, due to the prevalence of a higher temperature and humidity regime, lower survivorship and lower life expectancy was experienced in relation to the winter season.

The climatic condition prevailing during autumn season was hot and humid but comparatively cooler than that of rainy season (mean maximum temperature 34.03 °C, mean minimum temperature 21.01 °C, mean of mean temperature 27.52 °C, highest temperature 35.43 °C, lowest temperature 19.88 °C with 11.88 hrs of day length, 89.26% humidity and 324.92 mm of rainfall) (Table XII and XIII).

Table XII. Geographical position of the study site.

Tableau XII. Situation géographique de l'endroit d'étude.

1.	Study site	State Tasar Research Farm, Durgapur, Mayurbhanj District Orissa state
	<i>Lieu d'étude</i>	<i>Exploitation de recherche séricicole tasar d'état, Durgapur, région de Mayurbhanj, état d'Orissa</i>
2.	Altitude	51-100m
3.	Latitude & longitude	21°-45'N & 86° -55'E
4.	Topography / <i>Topographie</i>	Plain land forest / <i>Terre forestière</i>
5.	Dominant food plant / <i>Plante hôte dominante</i>	
	Species / <i>Espèces</i>	a) Arjuna (<i>Terminalia arjuna</i>) b) Asan (<i>Terminalia alata</i>) c) Sal (<i>Shorea robusta</i>)

Table XIII. Mean value of some environmental parameters of the study site.

Tableau XIII. Valeur moyenne de certains paramètres environnementaux sur le site d'étude.

Parameter	Late winter (January)	Spring (Feb-Mar.)	Summer (April-May)	Pre-rain (June)	Rainy (July-Aug.)	Autumn (Sept.-Oct.)	Winter (Nov-Dec.)
Paramètre	Fin de l'hiver (Janvier)	Printemps (Fev-Mars)	Été (Avril-Mai)	Avant la pluie (Juin)	Pluvieux (Juil.-Août)	Automne (Sept.-Oct.)	Hiver (Nov.-Dec.)
Maximum Temp. (°C) <i>Temp. maximum (°C)</i>	25.97 (0.23)	34.17 (0.37)	40.05 (0.57)	37.47 (0.38)	35.14 (0.27)	34.03 (0.52)	30.19 (0.41)
Minimum Temp. (°C) <i>Temp. minimum (°C)</i>	14.24 (0.63)	17.28 (0.73)	22.19 (0.31)	23.47 (0.89)	22.78 (0.73)	21.01 (0.46)	16.72 (0.33)
Average Temp. (°C) <i>Temp. moyenne (°C)</i>	20.11 (0.34)	25.73 (1.43)	31.12 (0.24)	30.47 (0.40)	28.96 (0.47)	27.52 (0.25)	23.45 (0.37)
Highest temp. (°C) <i>Temp. la + élevée (°C)</i>	31.33 (1.29)	36.94 (1.28)	45.11 (1.62)	41.76 (0.68)	38.33 (0.59)	35.43 (0.29)	33.20 (1.30)
Lowest temp. (°C) <i>Temp. (°C) la + basse</i>	13.27 (0.42)	15.75 (4.46)	21.08 (0.14)	22.30 (1.17)	21.53 (0.59)	19.88 (0.78)	15.21 (1.38)
Duration of sunshine (hrs/month) <i>Durée du soleil (hrs/mois)</i> (0.2/0.4 cal/cm ² /min)	282.79 (7.28)	274.45 (8.83)	276.31 (8.78)	187.73 (7.99)	134.49 (8.49)	217.31 (8.76)	282.24 (12.68)
Day length (hrs) <i>Durée du jour (hrs)</i>	9.65 (0.06)	10.23 (0.05)	12.58 (0.11)	14.25 (0.08)	13.12 (0.04)	11.88 (0.16)	10.78 (0.04)
Relative humidity (%) <i>Humidité relative (%)</i>	83.99 (2.90)	70.98 (2.14)	75.09 (1.08)	85.13 (2.59)	89.64 (1.02)	89.26 (0.87)	82.83 (1.49)
Total rainfall (mm) <i>Précipitations totales (mm)</i>	6.60 (1.38)	34.34 (2.86)	70.14 (9.28)	159.80 (37.23)	505.86 (110.40)	324.92 (61.75)	36.46 (11.14)
No. of rainy days (≥ 1 mm rainfall) <i>Nbre de jours de pluie</i> (≥ 1 mm de précipitations)	1.20 (0.77)	6.54 (0.60)	14.54 (1.46)	13.79 (1.45)	38.46 (2.56)	23.80 (3.14)	5.74 (1.04)
Total stormy weather period (hrs) <i>Période totale de temps</i> <i>orageux (hrs)</i>	0.08 (0.01)	0.04 (0.01)	0.10 (0.03)	0.18 (0.04)	4.52 (1.72)	10.75 (4.14)	0.68 (0.41)

The survivorship in the autumn season was higher than that of the rainy season up to the fourth instar, but the value falls below the corresponding value of the rainy season in the fifth instar, prepupa and adults. The higher survivorship in early instars was due to the prevalence of cooler climatic conditions and lower survivorship in late instars was attributed to prevalence of more days of cyclonic weather condition (10.75 days) (Table XIII) accompanied by strong winds due to occurrence of sudden low pressure in the Bay of Bengal as it usually happens. The lowest larval survivorship in the autumn season can be further correlated with the incidence of more predators, parasites and diseases in that season (Jolly *et al.*, 1979). Incidence of maximum pest population on the tasar food plants during the autumn season also appeared to affect the life expectancy and survivorship of the tasar larva in that season.

Higher production of cocoon during winter season (80 cocoons per DFL) indicated higher survivorship, lower production of cocoon during autumn season (49 cocoons per DFL) indicated lower survivorship and medium production of cocoon during rainy season (64 cocoons per DFL) indicated medium survivorship of the tasar silkmoth. This analysis indicated that survivorship of the tasar silkmoth decreases from rainy to autumn and then increases in winter season. Thus the above findings indicate that the life expectancy of the silkmoth coincides with the environmental condition.

2. Mortality factors :

The environmental condition during the autumn season was found hazardous to the larval stage mostly due to occurrence of strong cyclones and incidence of more predators, parasites and diseases even though the temperature and humidity regime was found comparatively lower than the rainy season. But this cooler temperature and humidity regime was considered congenial for the survivability of the tasar silkmoth which pupate inside the cocoon. The absence of a diapause period in the autumn pupa further check the possibility of pupal mortality during that period. Thus the pupal mortality factor was very low during the autumn season as compared to rainy and winter season. Higher mortality was observed in the rainy season pupa mostly due to the occurrence of a higher temperature and higher humidity regime, highest mortality in winter season pupa was also observed due to interaction of extremes of cold, heat and dry weather condition on the pupa diapausing in winter season.

Mortality factor was more or less very uniform in adult stage in all the seasons because moths prefer to emerge at favourable condition. The rate of mortality was 1 (one) and percentage of apparent mortality was 100 in the adult stage in all the seasons.

3. Life expectancy (e_i) :

The life expectancy was not uniform due to irregular mortality rate. The mortality rate was higher during the early stages. However, after attainment of the longest life expectancy at a particular stage, the life expectancy decreased continuously as the age of the silkmoth increased which showed a uniform mortality rate in the later stage of the life history.

4. Net reproduction rate (R_0) :

The decreasing pattern of R_0 in the advancement of age of the female silkmoth was observed like common observation in Rice weevil, *Calendra oryzae* (Birch, 1948); voles, *Microtus agrestis* (Leslie and Ranson, 1940) and eri silkmoth, *Philosamia ricini* (Joshi, 1984).

5. Innate capacity for increase (R_m) :

The lesser value of R_m in winter season was due to the reduced metabolic rate of the instars in winter and moreover the pupae remained in diapause in the spring and summer.

CONCLUSION

Considering various life table parameters it can be said that the winter season is the best season for rearing of the tasar silkworm *A. paphia* where three crop systems are possible. The rainy and autumn seasons come in the second and third place respectively. The expectancy of life (e_x), net replacement rate (R_0) and mean length of generation (T) were maximum in winter season. The value of innate capacity for increase (R_m) is less important in winter than in rainy and summer seasons.

REFERENCES

- BIRCH L.C. (1984) The intrinsic rate of natural increase of an insect population ; J. Anim. Ecol., 17, p.15-26.
- DEEVEY E.S. Jr (1947) Life tables in natural population of animals ; Quart. Rv. biol., 22, p.283-314.
- JOLLY M.S., SEN S.K., SONWALKAR T.N., PRASAD G.K. (1979) Non-mulberry silks, FAO, Manual, Rome, p.178.
- JOSHI K.L. (1984) Seasonal life tables of eri silkworm, *Philosamia ricini* Hutt. (Lepidoptera : Saturniidae) in semi-arid zone of India ; Sericologia. 24(2), p.151-165.
- JOSHI K.L., MISHRA S.D. (1985) Use of life table in the evolution of Caster varieties (a food) for the larvae of eri silkworm *Philosamia ricini* Hutt. (Lep : Saturniidae) ; Sericologia. 25(1), p.77-88.
- LESLIE P.H., RANSON R.M. (1940) The mortality and fertility and the rate of natural increase of the vole (*Microtus agretis*) as observed in the Laboratory ; J. Anim. Ecol., 9, p.27-52.
- MISHRA S.D., JOSHI K.L. (1980) Life table experimental of the castor silkworm, *Philosamia ricini* Hutt. (Saturniidae : Lepidoptera). Paper presented (in Oral Session) in the XVI International Congress of Entomology (August 3-9, 1980, Kyoto, Japan) and published in study and utilisation of non-mulberry silkworm. (Eds. S. Sakate & H. Yamada) p. 26-32.
- NAYAK B.K., (1988) Seed multiplication, grainage operation and modern practices in tasar silkworm rearing, proc. Seminar in sericulture in Orissa, 16-18 March 1988, Regional Development Office, Central Silk Board, Bhubaneswar, p. 1-23.
- NAYAK B.K. & DASH M.C. (1991) Environmental regulation of voltinism in *Antheraea mylitta* Drury, the Indian tasar silk insect. Sericologia, 31, 474-486 (France).
- SOUTHWOOD T.R.E. (1966) The construction, description and analysis of age specific life tables p. 277-310, Ecological methods, Chapman and Hall, London, p.383.

CYCLE SAISONNIER DU PAPILLON TASAR SAUVAGE INDIEN *ANTHERAEA PAPHIA* LINN. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

B.K. NAYAK & M.C. DASH

1. House No. VII-M-88, Shailashri Vihar, Bhubaneswar - 751016, Orissa, Inde.
2. School of Life Sciences, Sambalpur University, Jyoti Vihar, Burla, Inde.

INTRODUCTION

L'étude du cycle de vie du papillon tasar, est importante d'un point de vue d'exploitation et également afin d'évaluer le rôle de différents facteurs environnementaux sur son cycle de vie. Les facteurs climatiques tels que la photopériode, la température, l'humidité relative et la nourriture etc. sont d'importants constituants de l'environnement qui influenceront ses chances de survie et sa reproduction tout en modifiant sa fertilité, sa longévité et sa vitesse de développement. Grâce aux études de cycle, il est possible de prévoir le nombre de papillons qui survivront sous des conditions naturelles à un temps donné et ainsi des mesures de contrôle envers les prédateurs et les parasites peuvent être prises.

Le cycle de vie du papillon tasar inclut des phases discrètes telles que les oeufs, les âges (de la larve), la chrysalide, le stade adulte et des individus qui ne se reproduisent qu'une fois dans leur vie.

En d'autres mots, des adultes qui meurent après avoir pondu des oeufs qui éclosent pour former la génération suivante. Selon un gradient altitudinal avec des conditions de température et de photopériode différentielle, *Antheraea paphia* donne une (univoltine), deux (bivoltine) ou trois (trivoltine) générations (Nayak & Dash, 1991). C'est pourquoi, des études de tableau de vie, à des saisons différentes fourniront de précieuses informations.

Malgré les nombreuses applications et l'importance au niveau économique du papillon tasar, *A. paphia*, il est très surprenant de constater qu'aucun effort n'a été fait pour étudier quantitativement son cycle de vie et la dynamique de sa population. Mishra et Joshi (1980), Joshi (1984) et Joshi et Misra (1985) ont étudié la dynamique de la population du ver à soie eri *Phylosamia ricini* Hutt. en prenant comme variables les saisons et les variétés de nourriture. L'étude actuelle traite de l'analyse du cycle de vie de *A. paphia* lors de différentes saisons d'élevage.

MATERIELS ET METHODES

1. Maintien des générations :

De 1990 à 1994 trois séries d'expériences ont été réalisées sur 15 générations successives, pendant trois saisons d'élevage : la saison des pluies, l'automne et l'hiver à la *State Tasar Research Farm*, Durgapur dans le district de Mayurbhanj, Orissa, Inde. Une série d'expériences a été réalisée avec 1000 oeufs sains de *A. paphia* pondus le même jour, en 5 réplifications (Southwood, 1966), avec 200 oeufs (= 1 DFL) pour chaque réplification ; puisque tous les éleveurs et les sériciculteurs utilisent le terme DFL (Ponte saine) comme unité de mesure des oeufs sains en sériciculture, la productivité de la récolte tasar est évaluée en termes de DFL. Comme il en est de coutume, l'élevage a été réalisé en extérieur avec *Terminalia alata* comme nourriture. Sur la base de recommandations précédentes, les

larves de premier et de second âges ont été nourries avec des feuilles tendres, les larves de troisième âge avec des feuilles semi-matures et les larves des quatrième et cinquième âges avec des feuilles matures. Des procédures adéquates d'élevage et de grainage (l'émergence, la reproduction et la ponte) ont été suivies conformément à l'ensemble des pratiques recommandées par Jolly et coll. (1979) et Nayak (1988).

2. La mortalité à chaque âge :

La mortalité de *A. paphia* a été enregistrée à chaque âge pour chacune des générations par simple comptage de la population vivante. La mortalité des chrysalides a été calculée d'après l'émergence des papillons adultes. Les individus morts de tous les âges ont été examinés consciencieusement afin de trouver la raison de la mortalité ; toutefois, la raison de la mortalité des oeufs non éclos, qu'elle soit due à une absence de fécondation ou à une mort de l'embryon, n'a pu être étudiée. Le taux de survie de chaque âge a été évalué selon Harcourt (1969).

3. La fertilité du papillon femelle :

Dès l'émergence des cocons, l'accouplement pris place dans la station de grainage où les cocons étaient conservés en guirlandes. A partir du total des accouplements, le taux de fertilité des papillons femelles et le nombre moyen d'oeufs pondus ont été enregistrés.

4. Enregistrement des paramètres environnementaux :

Les paramètres environnementaux ont été observés quotidiennement pendant cinq ans de 1990 à 1994 en considérant la température, l'humidité, les précipitations, la durée de l'ensoleillement et la période diurne. L'observatoire a été installé sur des plans bien exposés de 54 m (N-S) par 36 m (E-W), loin de hautes collines, de bâtiments, de voies d'eau, de grands arbres ou de forêts denses. La température de l'air a été mesurée à l'aide d'un thermomètre à minima - maxima, placé à l'intérieur d'un écran de Stevenson situé à 1,3 m au-dessus du sol. L'humidité a été mesurée à l'aide d'un hygromètre exposé dans un écran de Stevenson. Les précipitations ont été mesurées à l'aide d'un pluviomètre érigé sur un sol en béton de $0,6 \times 0,6 \times 0,6$ m. La durée de l'ensoleillement a été enregistrée à l'aide d'un appareil enregistreur d'ensoleillement érigé sur un solide pilier de maçonnerie à une hauteur de 3 m au-dessus du sol et la valeur minimum de radiation de l'ensoleillement enregistré était d'environ $0,22-0,4 \text{ cal / cm}^2 / \text{min}$. La période diurne a été calculée du lever au coucher du soleil en prenant la visibilité du plus haut rayon du soleil sur la ligne d'horizon comme repère. A partir de ces cinq années d'observation, les valeurs saisonnières des paramètres cités plus haut ont été calculées.

5. Construction du tableau de vie :

Un tableau de vie est principalement un dispositif permettant de décrire l'expérience de survie d'un groupe d'individus. Les variables de base d'un tableau de vie sont le temps ou l'âge (x) et la fonction l_x du tableau de vie. Cette fonction est égale à la proportion d'un groupe d'individus nés simultanément à l'heure (l'âge) zéro, qui sont encore en vie à l'heure (l'âge) x . Une cohorte ou un tableau de vie horizontal est calculé en enregistrant le nombre de survivants à des époques successives (âges) jusqu'à ce que tous les membres d'une cohorte soient morts. En se basant sur l'idée décrite plus haut, des modèles mathématiques ont été développés par Deevey (1947). Les procédures indiquées par Southwood (1966) ont été utilisées pour représenter les nombreuses variables tirées du tableau de vie du papillon tassar.

1. L'âge pivot par classe d'âges en jours = x
2. Le nombre de survivants au commencement de la classe d'âge x , qui représente la probabilité de survie au-delà de $x = l_x$
3. L'unité du taux de survie l_x a été calculée en tant que fraction de un = l_{x_1}
4. Le nombre de morts (la mortalité) pendant l'intervalle d'âge $x = d_x$
 $d_x = l_x - l_{x+1}$

5. La probabilité de mort pendant l'intervalle $(x, x+1)$, étant donné que l'individu survit au moins jusqu'à x . On l'appelle aussi taux de mortalité $= q_x$

$$q_x = \frac{d_x}{l_x}$$

6. En réalité, tous les individus ne meurent pas subitement à la fin de l'intervalle de chaque classe d'âge comme il est indiqué dans le tableau de vie pour faciliter le calcul. La mortalité continue d'une manière aléatoire pendant tout l'intervalle. Ainsi, le nombre d'individus survivant jusqu'au milieu d'un intervalle de classe entre l'âge x et l'âge $x + 1 = L_x$

$$L_x = \int_x^{x+1} (l_x) d_x$$

Mais si les intervalles des âges sont raisonnablement petits, ce nombre peut être trouvé à partir de

$$L_x = \frac{l_x + l_{(x+1)}}{2}$$

7. La population est dynamique, en raison de la natalité, de la mortalité, de la migration etc. Lorsqu'un nombre d'individus traverse un intervalle de classe d'âge, la place est immédiatement prise par un autre nombre d'individus qui se sont qualifiés depuis l'intervalle de classe d'en dessous. Ainsi, au seuil supérieur d'intervalle de classe, ne se trouvent pas seulement les nombres l_x , indiqués pour cet intervalle de classe, mais aussi le groupe qui a franchi cet intervalle de classe. Ainsi, le nombre total d'individus qui a franchi le seuil de tous les intervalles plus tôt est T_x . Autrement dit, le temps de vie total restant aux individus en vie au moment x (L_1) est la somme de leurs temps de vie individuels.

$$T_x = \sum_{i=x}^w (L_i) \text{ ou } T_x = L_x + L_{x+1} + L_{x+2} + \dots + L_w$$

Où 'w' est le moment (l'âge) où tous les individus sont morts. Cette statistique a été calculée en remontant la colonne L_x en retenant le total cumulé jusqu'en haut de la colonne. Ce total cumulé en haut de la colonne T_x représente la population qui a vécu l'ensemble du cycle avec l'espérance de vie calculée e_x .

8. L'espérance de vie d'un individu à $x = e_x$
Ceci est parfois appelé le temps de vie restant moyen.

$$e_x = \frac{\int_x^w l_x d_x}{L_x} = \frac{T_x}{L_x}$$

9. L'espérance de vie est simplement la durée de vie qu'un individu est supposé vivre sachant qu'il a survécu à x . Finalement, la fonction de risque est le taux de mort instantanée à mi-parcours de $(x, x + 1)$ (i.e. x') sachant que l'individu a au moins vécu jusqu'à x' .
Le taux de risque $= hx'$

$$hx' = hx' = \frac{2q_x}{2 - q_x}$$

Le taux de risque peut aussi être appelé le taux de mortalité à un âge spécifique.

6. Construction du tableau de fertilité :

Les tableaux de vie sont d'importants résumés de données d'une population, mais ils manquent d'information à propos d'attributs aussi importants que la reproduction. Afin d'intégrer la notion de reproduction, les tableaux de vie sont étendus en tableaux de fécondité. La fertilité peut être utilisée au lieu de la fécondité puisqu'elle se réfère à des naissances viables (Southwood, 1966). Un tableau de fertilité a été construit en préparant un tableau de vie comme celui de Joshi (1984) et celui de Joshi et de Mishra (1985) avec x et l_x tels que précédemment, mais la colonne L_x se référerait entièrement à des femelles, i.e. le nombre de femelles vivantes pendant un intervalle d'âge donné en tant que pourcentage d'une population initiale.

1. Fertilité à un âge spécifique ou taux de natalité = m_x

C'est le nombre d'oeufs pondus (descendants nés) par unité de temps, d'un individu dans une population et qui est déterminé par la division du nombre d'oeufs pondus au temps x par le nombre total de femelles vivantes au temps x .

2. Le nombre total d'oeufs pondus par une femelle unitaire au cours de sa vie est la fécondité potentielle

$$pf = \sum m_x = p_f$$

3. Le taux de remplacement net (la reproduction) de la population femelle = R_0

C'est le produit du nombre moyen d'oeufs produits (taux de natalité) par les femelles survivant à l'âge (l_{x_1})

$$R_0 = l_{x_1} \cdot m_x$$

4. Le remplacement total effectué par une femelle moyenne de chaque génération = R_0

Ce serait la capacité de portée moyenne du papillon tassar dans des conditions spécifiques.

5. La capacité innée d'augmentation ou le taux intrinsèque maximum d'augmentation = R_m

Elle résumerait les qualités physiologiques du papillon tassar en accord avec sa capacité à augmenter en nombre pendant une génération (T), ce qui a été mathématiquement déterminé par Dublin et Lotka (1925) et dont l'équation est :

$$T = \frac{\sum (l_x \cdot m_x \cdot x)}{\sum (l_x \cdot m_x)}$$

$$\text{donc } R_m = \frac{\text{Log}_e \cdot R_0}{T}$$

6. Le Potentiel Biotique annuel = BP

$$BP = PZ_n$$

Où P est la fécondité potentielle et Z_n le nombre de générations par an.

7. Comparaison des facteurs de mortalité à l'intérieur d'une génération :

1. La mortalité apparente (AM) est la mortalité mesurée, où le nombre de morts est exprimé en pourcentage du nombre d'individus qui entrent dans cet âge, i. e. d_x un pourcentage de l_x .

$$AM = \frac{d_x}{l_x} \times 100$$

2. La mortalité réelle (RM) est calculée sur la base de la densité de la population au début de la génération.

$$RM = \frac{d_x}{l_c} \times 100$$

Où l est la taille de la cohorte au début de la génération.

3. La mortalité indispensable (irremplaçable) (IM) est cette partie de la mortalité d'une génération qui ne se produirait pas, devrions nous retirer du système de vie le facteur de mortalité en question, après avoir tenu compte de l'action des facteurs de mortalité résultants.
4. Le taux de mortalité (MR) représente l'augmentation de population qui serait survenu si le facteur en question avait été absent. Si la population finale est multipliée par ce ratio, alors la valeur résultante représente les individus dont la mortalité indispensable serait due à ce facteur.

$$MR = \frac{d_x}{l_{x+1}}$$

RESULTATS

1. Survie (l_x) :

On peut raisonnablement supposer que le ratio sexuel, les taux de survie, la mort et la naissance sont les fonctions des conditions environnementales, puisque la même nourriture i.e. des feuilles de *T. alata*, a été donnée dans tous les cas. La comparaison des tableaux I, II et III montre que la survie des insectes, de l'oeuf à la chrysalide, fut la plus élevée pendant la saison hivernale. Le nombre de survivants qui atteignent l'âge adulte fut plus ou moins le même pendant la totalité des saisons i.e. 46, 44 et 45 sur 200 pendant la saison des pluies, l'automne et l'hiver respectivement.

2. Les facteurs de mortalité :

Les facteurs de mortalité comprennent la mortalité (d_x), le taux de mortalité (q_x), le pourcentage de mortalité apparente (AM), le pourcentage de mortalité réelle (RM), la mortalité indispensable (IM), la mortalité : le ratio de survie ($M : S$) et le facteur de risque (h_x). Les facteurs de mortalité ont toujours été comparativement plus élevés en ce qui concerne les oeufs, l'éclosion, le quatrième âge et plus bas pour le troisième âge et le stade pré-nymphal (Tableau IV). Chez les larves du cinquième âge, ils étaient de 2 à 5 fois plus importants pendant les saisons d'automne et d'hiver que pendant la saison des pluies.

3. L'espérance de vie (e_x) :

L'espérance de vie au cours des différents stades du développement de *A. paphia* était au plus haut pendant l'hiver, sauf pour le stade adulte pendant lequel elle était plus ou moins la même pour toutes saisons. Pendant la saison des pluies (Tableau I), l'espérance de vie augmente après l'éclosion.

Elle est la plus longue au cours du troisième âge (35,58 jours) après lequel elle diminue à mesure que l'âge des individus augmente. Pendant l'automne, l'espérance de vie est la plus longue au début du cinquième âge (32,40 jours) après lequel elle diminue graduellement à mesure que l'âge des individus augmente. Pendant l'hiver, l'espérance de vie augmente graduellement après le stade de l'oeuf, elle est au plus haut à la fin du stade pré-nymphal (161,06 jours) puis elle diminue ensuite graduellement.

4. Le taux de reproduction net (R_0) :

R_0 est à son maximum (39,34) pendant la saison des pluies (Tableau VIII), à son minimum (37,97) pendant l'automne (Tableau IX) et moyen pendant l'hiver (Tableau X), signifiant que le renouvellement maximum de la population survient pendant la saison des pluies puis en hiver et en automne dans un ordre décroissant. Il a aussi été remarqué que R_0 était à son maximum le premier jour de l'oviposition et que la valeur diminuait ensuite.

5. La capacité innée d'augmentation (R_m) :

Ceci donne un taux instantané d'augmentation de la population qui fut estimé mathématiquement comme la période moyenne s'écoulant de la naissance des parents à celle des descendants (T). La valeur de R_m (Tableau 11) est la plus basse en hiver (0,343), la plus haute pendant la saison des pluies (0,880) et moyenne en automne (0,789). Le temps de génération le plus bas se situe pendant la saison des pluies (67,31d), suivi de celui de l'automne (72,10d) et la valeur minimum est celle de l'hiver (230,15d).

DISCUSSION

1. La survie (l_x) :

L'élevage du papillon tassar a été effectué en hiver pendant le mois de novembre-décembre lorsque le climat est froid avec une humidité optimum (moyenne de la température maximale 30,10° C, moyenne de la température minimale 16,72° C, moyenne de la température moyenne 23,45° C, température la plus haute 33,20° C et température la plus basse 15,21° C avec 10,78 heures de longueur de jour, 82,83 % d'humidité, 36,46 mm de précipitations) (Tableau XII et XIII). Le taux de survie le plus haut de l'oeuf à l'âge de la chrysalide en hiver est dû à la prévalence de conditions climatiques plus fraîches.

L'élevage d'hiver fut terminé à la fin décembre, c'est alors que la chrysalide diapause de janvier à juin. Les conditions climatiques furent plus fraîches au mois de janvier (moyenne de la température maximum 25,97° C, moyenne de la température minimum 14,24° C, moyenne de la température moyenne 20,11° C, température la plus élevée 31,33° C, température la plus basse 13,27° C avec 9,65 heures de durée de jour, 83,99 % d'humidité et 6,6 mm de précipitations) (Tableaux XII et XIII).

Le printemps s'annonça aux mois de février et mars lorsque le climat commençait à se réchauffer (moyenne de la température maximum 34,17° C, moyenne de la température minimum 17,28° C, moyenne de la température moyenne 25,73° C, température la plus haute 36,9° C, température la plus basse 15,75° C avec 10,23 heures de longueur de jour, 70,89 % d'humidité et 34,34 mm de précipitations) (Tableaux XII et XIII). L'été s'annonça entre avril et mai lorsque le climat était chaud et humide (moyenne de la température maximum 40,05° C, moyenne de la température minimum 22,19° C, moyenne de la température moyenne 31,12° C, température la plus haute 45,11° C, température la plus basse 21,08° C avec 12,58 heures de jour, 75,09 % d'humidité et 70,14 mm de précipitations) (Tableaux XII et XIII). Juin fut la saison des pré-pluies au moment où la température descend légèrement avec une augmentation de la période diurne, de l'humidité et des précipitations (moyenne de la température maximum 37,47° C, moyenne de la température minimum 23,47° C, moyenne de la température moyenne 30,47° C, température la plus haute 41,76° C, température la

plus basse 22,30° C avec 14,25 heures de longueur de jour, 85,13 % d'humidité et 156,80 mm de précipitations (Tableau XII et XIII) et lorsque le papillon émerge.

Ainsi la chrysalide traversa des extrêmes de température (de 13,27° C à 45,11° C), d'humidité (de 70,09 % à 85,13 %) de période diurne (de 9,65 à 14,25 heures par jour) et de précipitations (de 6,60 à 156,80 mm) (Tableaux XII et XIII). En conséquence, la mortalité la plus haute au stade nymphal eut lieu à cause de la vigueur du froid et de la chaleur, vigueur qui fut enregistrée convenablement au moment de l'émergence des papillons. La survie la plus élevée pendant l'élevage d'hiver semble être destinée à rencontrer le stress de conditions climatiques hostiles survenues pendant la période de la diapause. Cette période s'étendit sur six mois comprenant l'hiver, le printemps, l'été et la pré-saison des pluies. Ainsi, la survie des papillons durant l'élevage d'hiver semble contribuer au maintien du réservoir de la population de l'espèce à un certain niveau, de génération en génération. Les conditions climatiques qui prévalaient pendant la saison des pluies étaient chaudes et humides (moyenne des températures maximum 35,14° C, moyenne des températures minimum 22,78° C, moyenne des températures moyennes 28,96° C, température la plus haute 38,33° C, température la plus basse 21,53° C avec 13,12 heures de jour, 89,64 % d'humidité et 505,86 mm de précipitations) (Tableaux XII et XIII). Ainsi, pendant la saison des pluies, à cause de la prévalence d'un régime de températures et d'humidité plus élevées, une survie ainsi qu'une espérance de vie plus basses furent rencontrées par rapport à celle de la saison d'hiver.

Les conditions climatiques en vigueur pendant l'automne étaient chaudes et humides, mais comparativement plus froides que celles de la saison des pluies (moyenne des températures maximum 34,03° C, moyenne des températures minimum 21,01° C, moyenne des températures moyennes 27,52° C, température la plus haute 35,43° C, température la plus basse 19,88° C avec 11,88 heures de période diurne, 89,26 % d'humidité et 324,92 mm de précipitations) (Tableaux XII et XIII).

La survie en automne est plus élevée que celle de la saison des pluies jusqu'au quatrième âge, mais la valeur tomba en dessous de la valeur correspondante à celle de la saison des pluies pour le cinquième âge, le stade pré-nymphal et les individus adultes. La survie la plus élevée au cours des premiers stades est due à la prévalence d'un nombre plus important de jours à cyclones (10,75 jours) (Tableau XIII), accompagnés de vents forts dus à une chute soudaine de pression dans la Baie du Bengale, comme il arrive fréquemment. La survie larvaire la plus basse en automne peut être davantage mise en corrélation avec une incidence plus importante de prédateurs, de parasites et de maladies se manifestant en cette saison (Jolly et coll., 1979). L'incidence maximum de la population de parasites sur les plantes qui nourrissent le tasar pendant l'automne, semble aussi affecter l'espérance de vie et la survie de la larve du tasar pendant cette saison.

Une production plus importante de cocons pendant l'hiver (80 cocons par DFL) indique une survie plus grande ; une production de cocons moindre pendant l'automne (49 cocons par DFL) indique une survie moindre et une production de cocons moyenne pendant la saison des pluies (64 cocons par DFL) indique une survie moyenne du papillon tasar. Cette analyse indique que la survie du papillon diminue de la saison des pluies à l'automne, puis augmente en hiver. Ainsi les résultats mentionnés plus haut indiquent que l'espérance de vie du papillon est en rapport avec les conditions environnementales.

2. Les facteurs de mortalité :

Il a été remarqué que les conditions environnementales en automne étaient risquées pour le stade larvaire, ceci étant dû à l'apparition de forts cyclones et à une incidence plus importante de prédateurs, de parasites et de maladies, bien que le régime de la température et de l'humidité soit comparativement plus bas que celui de la saison des pluies. Mais ce régime d'humidité et de températures plus basses a été considéré adéquat pour la capacité de survie du papillon tasar qui était en pupaison à l'intérieur du cocon. L'absence de période de diapause pour la chrysalide en automne vérifie une fois de plus la probabilité de mortalité de la nymphe pour cette période. Ainsi, le facteur de mortalité de la nymphe est bas en automne en comparaison avec celui de la saison des pluies et de l'hiver. Une mortalité plus

élevée a été observée chez la chrysalide pendant la saison des pluies, ceci étant dû à des températures plus hautes et à un régime d'humidité plus élevé. Une mortalité plus élevée chez la chrysalide en hiver a aussi été remarquée, ceci étant dû à l'interaction des extrêmes de froid, de chaleur et de sécheresse sur la chrysalide diapausante en hiver.

Le facteur de mortalité a été plus ou moins uniforme au stade adulte pendant toutes les saisons parce que les papillons préfèrent émerger lors de conditions favorables. Le taux de mortalité a été de 1 (un) et le pourcentage de mortalité apparente de 100 pour le stade adulte en toutes saisons.

3. L'espérance de vie (e_i) :

L'espérance de vie n'est pas uniforme, ceci étant dû à un taux de mortalité irrégulier. Le taux de mortalité est plus élevé pendant les premiers stades. Cependant, après avoir atteint l'espérance de vie la plus longue à un stade particulier, l'espérance de vie diminue graduellement alors que l'âge du papillon augmente, ce qui révèle un taux de mortalité uniforme pendant les stades plus avancés de leur histoire.

4. Le taux de reproduction net (R_0) :

Le modèle décroissant de R_0 lors de la progression en âge du papillon femelle a été observé comme une caractéristique commune à plusieurs espèces telles que le charançon du riz, *Calendra oryzae* (Birch, 1948), le campagnol, *Microtus agrestis* (Leslie et Ranson, 1940) et le papillon eri, *Philosamia ricini* (Joshi, 1984).

5. Capacité innée pour l'augmentation (R_m) :

La valeur moindre de R_m en hiver est due à un taux métabolique réduit des différents âges en hiver. En outre, les chrysalides restèrent en diapause pendant le printemps et l'été.

CONCLUSION

Si l'on considère les différents paramètres des tableaux de vie, on peut dire que l'hiver est la meilleure saison pour l'élevage du papillon tassar *A. paphia*, pendant laquelle trois systèmes de récolte sont possibles. La saison des pluies et l'automne arrivent en seconde et troisième place respectivement. L'espérance de vie (e_x), le taux de remplacement net (R_0) et la longueur moyenne de chaque génération (T) sont à leur maximum en hiver. La valeur de la capacité innée pour l'augmentation (R_m) est moins importante en hiver que pendant la saison des pluies et l'été.

RESPONSES OF MAXILLARY SENSILLA STYLOCONICA IN *BOMBYX MORI* TO GLUCOSIDES FROM THE TRAVELER'S JOY, *CLEMATIS PENICULATA*, A NONHOST PLANT

T. SHIMIZU** ** & K. ASAOKA

National Institute of Sericulture and Entomological Science, 1 - 2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Glucoside in the leaves of the traveller's joy, Clematis peniculata, was analysed and collected by a high performance liquid chromatography (HPLC) - refractive index detector (RID) (Shimizu et al., 1994). This glucoside extract of the traveller's joy leaves stimulates the deterrent cell ("R receptor" cells, associated with deterrency) in the medial sensilla styloconica of Bombyx mori. From the dose-response curve, the lowest limit of detection was 100 - 1,000 ppm.

Keywords : *Bombyx mori*, traveller's joy, *Clematis peniculata*, antifeedant, glucoside deterrent, medial sensilla styloconica.

INTRODUCTION

We have been reporting that glucoside in the leaves of the traveller's joy, *Clematis peniculata*, is isolated by a high performance liquid chromatography (HPLC) - refraction index detector (RID) (Shimizu *et al.*, 1994). It was also found that this glucoside is an antifeedant for *Bombyx mori* from feeding experiments with a simple artificial diet containing the HPLC fraction (Shimizu *et al.*, 1994).

In these feeding tests, however, it is not clear whether this glucoside purified by HPLC directly stimulates the deterrent cell ("R receptor" cell) associated with deterrency. The R receptor is stimulated by bitter substances, for example, glucosides, i.e., salicin, phlorizin (Ishidawa, 1966) and osmundalin (Shimizu *et al.*, 1995). Therefore, we investigated electro-physiologically whether this compound stimulate deterrent receptors in the maxillary sensilla styloconica of *Bombyx mori* larva.

MATERIALS AND METHODS

Plants, sampling and purification of glucoside by high performance liquid chromatography (HPLC) :

The plant, extraction and fractionation by an HPLC have previously been described in this journal (Shimizu *et al.*, 1994).

Insects :

Larvae of *Bombyx mori* (C 145 × N 140) were reared on an artificial diet (Yakuruto Co. Ltd., Japan) at 25 + 1°C under a photoperiod of 12 h light and 12 h dark. Newly molted, unfed, last-instar larvae were used for electrophysiological investigations.

* Present address : Zennba 380, Isehara, Kanagawa 259-1106, Japan.

** To whom correspondence should be addressed.

Electrophysiological response :

The chemoreceptor tested was the R receptor associated with one of the sensilla styloconica (called the Ss-II hair for easy reference) on the maxilla (Ishikawa, 1966). The electrophysiological methods used in the experiment were the same as described by Ishikawa (1966) and Shimizu *et al.*, 1995. The isolated head was fixed on an indifferent, platinum wire electrode. Stimuli were aqueous solutions contained in the stimulating recording electrode. Stimulation and recording were started simultaneously when the electrode was slipped over the tip of the hair by means of a micromanipulator. The signal was amplified, observed on a cathode ray oscilloscope, and displayed on paper by thermal array recorder.

The period of stimulation was 4 sec. The eluted HPLC fraction was dissolved in 5×10^{-2} M NaCl solution and concentrations were expressed as ppm in 5×10^{-2} M NaCl solution.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the impulses discharged from receptor cells in the medial sensilla styloconica of *Bombyx mori* to glucoside in a NaCl solution (5×10^{-2} M). Glucoside stimulated sensory R cells in the medial sensilla styloconica (Figs. 1D-E). The number of impulses per second increased with increasing concentration (Figs. 1D-E, respectively).

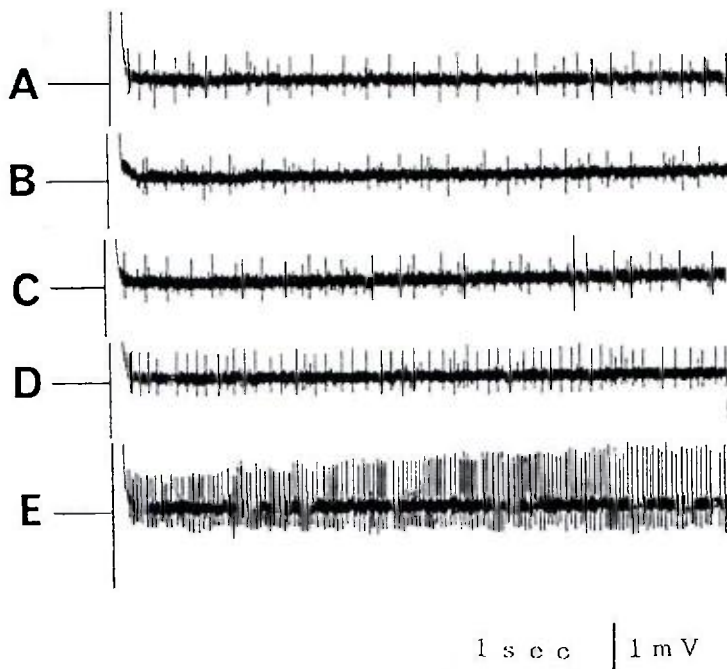


Fig. 1. The impulses discharged from R cells in the medial sensilla styloconica of *Bombyx mori*.

Impulses are measured during 4 sec. of stimulation with various concentration of glucosides in 5×10^{-2} M NaCl solution. A : control (5×10^{-2} M, NaCl solution), B : 1 ppm, C : 10 ppm, D : 100 ppm, E : 1,000 ppm.

Fig. 1 : Impulsions déchargées par les cellules R dans le palpe maxillaire chez *Bombyx mori*.

Les impulsions sont mesurées pendant 4 secondes de stimulation avec des concentrations variables glucosides dans une solution de NaCl à 5.10^{-2} M.

A : controle (5×10^{-2} M, NaCl solution), B : 1 ppm, C : 10 ppm, D : 100 ppm, E : 1000 ppm.

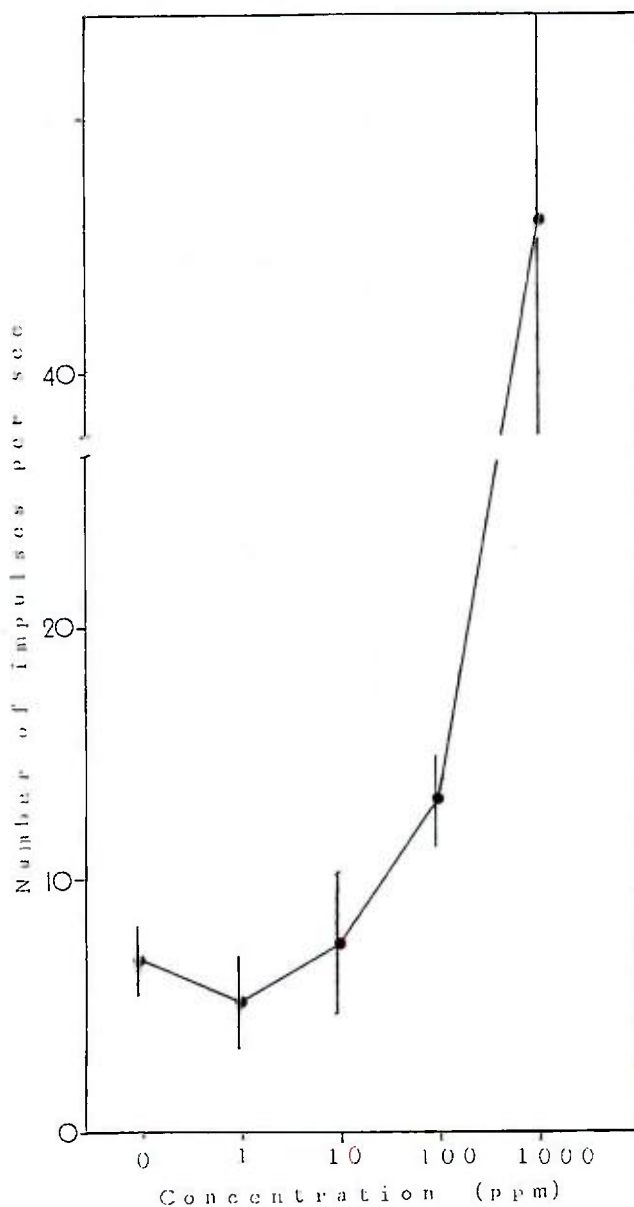


Fig. 2. The relationship between concentration of sample and the number of impulses discharged from R cells in the medial sensilla styloconica of *Bombyx mori*.

Concentrations of sample were expressed as parts per million in 5×10^{-2} M NaCl solution. Vertical bar of each point indicates mean value of S.E.M. (N=5).

Fig. 2. Relation entre la concentration de l'échantillon et le nombre d'impulsions déchargées des cellules R dans le palpe maxillaire de *Bombyx mori*.

Les concentrations de l'échantillon sont exprimées en parts par million dans une solution 5×10^{-2} M NaCl. Les barres verticales de chaque point indiquent la valeur moyenne de l'écart type (N=5).

It is not clear that the glucoside-sensitive cell is the same cell that Ishikawa (1966) named the "R receptor" cell in the present experiment.

Figure 2 shows the dose-response curve of impulses discharged from R cells for glucoside. The discharge frequency of R impulses increased with increasing concentrations of glucoside. The sensory input from R receptors, therefore, may be responsible for inhibiting feeding, especially by inhibiting biting behaviour (Hirao, 1978). Previous report showed that this glucoside at 1,000 ppm is an

antifeedant for *Bombyx mori* from feeding experiments with a simple artificial diet containing the HPLC fraction (in Fig. 6 by Shimizu *et al.*, 1994).

From these results, it was found that the antifeedant action of this glucoside is correlated with taste detergency and that this glucoside is a weak antifeedant for *Bombyx mori*.

In *Bombyx mori*, it is well known that the neurons in sensilla styloconica on the maxilla function as chemosensory organs (Hirao *et al.*, 1992 ; Shimizu *et al.*, 1993 ; Shimizu and Yazawa, 1993 ; Shimizu *et al.*, 1994 ; Shimizu *et al.*, 1995). Accordingly, we can study easily antifeedants in the plants, based on our present knowledge of *Bombyx mori* as indicated in these experiments.

REFERENCES

- HIRAO T. (1978) Gustatory and feeding responses to the artificial diet in the silkworm, *Bombyx mori*. II. The effect of feeding deterrents. *J. Seric. Sci. Jpn.* 47, 186 - 192.
- HIRAO T., ARAI N., SHIMIZU T., YAZAWA M. (1992) Sensilla styloconica on the maxillary lobe of *Bombyx mori* and *Spodoptera litura*. *Sericologia* 32, 559-563.
- ISHIKAWA S. (1966) Electrical response and function of a bitter substance receptor associated with the maxillary sensilla of the larva of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Cell. Comp. Physiol.* 67, 1-12.
- SHIMIZU T., YAZAWA M. (1993) Osmundalin: antifeedant of a lepidopterous insect, *Bombyx mori*, from the royal fern (*Osmunda japonica*). *Sericologia* 33, 695-699.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., HAYASAKA S. (1994) Glucoside from the traveller's joy, *Clematis peniculata*, elicits blisters on cultured *Antheraea eucalypti* cells and feeding inhibition to *Bombyx mori*. *Sericologia* 34, 465-472.
- SHIMIZU T., ASAOKA K., NUMATA A. (1995) Osmundalin (lacton glucoside) stimulates receptor cells, associated with detergency, of *Bombyx mori*. *Z. Naturforsch* 50, 463-465.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., HIRAO T., ARAI N. (1993) Responses of maxillary sensilla styloconica in *Bombyx mori* to glucosides from *Osmunda japonica*, a nonhost plant. *J. Chem. Ecol.* 19, 2501-2512.

REPONSES DU PALPE MAXILLAIRE DE *BOMBYX MORI* AUX GLUCOSIDES DE LA CLEMATITE, *CLEMATIS* *PENICULATA*, UNE PLANTE NON HOTE

T. SHIMIZU* & K. ASAOKA

National Institute of Sericulture and Entomological Science, 1 - 2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305,
Japon.

Les glucosides dans les feuilles de la clématite, Clematis peniculata, ont été analysés et recueillis à l'aide d'une chromatographie liquide haute performance (HPLC) à détecteur d'indice de réfraction (RID) (Shimizu et coll. 1994). Cet extrait de glucosides des feuilles de clématite stimule les cellules préventives (les cellules 'récepteur R', associées au caractère de prévention) dans la partie médiane du palpe maxillaire chez Bombyx mori. D'après la courbe de réponse aux doses, la limite la plus basse de détection se situe entre 100 et 1000 ppm.

INTRODUCTION

Nous avons indiqué que les glucosides dans les feuilles de la clématite, *Clematis peniculata*, avaient été isolés à l'aide d'une chromatographie liquide haute performance (HPLC) - à détecteur d'indice de réfraction (RID) (Shimizu et coll., 1994). Il a aussi été montré que ces glucosides étaient inhibiteurs de prise de nourriture chez *Bombyx mori*, d'après les expériences réalisées avec une alimentation artificielle simple contenant une fraction de HPLC (Shimizu et coll., 1994).

Cependant, lors de ces tests, il n'a pas été établi que les glucosides purifiés par HPLC stimulaient directement les cellules préventives (les cellules 'récepteur R'). Le récepteur R est stimulé par des substances amères, par exemple, les glucosides tels que la salicine, le phlorizine (Ishidawa, 1966) et l'osmunduline (Shimizu et coll., 1995). C'est pourquoi nous avons étudié de manière électro-physiologique si ce mélange stimulait les récepteurs préventifs dans les palpes maxillaires de la larve de *Bombyx mori*.

MATERIELS ET METHODES

Les plantes, l'échantillonnage et la purification des glucosides à l'aide de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) :

Le végétal, l'extraction et le fractionnement par un HPLC ont été décrits précédemment dans cette revue (Shimizu et coll., 1994).

Les insectes :

Des larves de *Bombyx mori* (C 145 × N 140) ont été élevées avec une alimentation artificielle (Yakuruto Co. Ltd., Japan) à 25 ± 1° C, selon une photopériode de 12 h de jour et 12 h de nuit. Les

* Adresse actuelle : Zennba 380, Ischara Kanagawa 259-1106, Japon. Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

larves à leur dernier âge, non nourries et venant juste de muer ont été utilisées à des fins d'investigations électrophysiologiques.

La réponse électrophysiologique :

Le chimiorécepteur testé a été le récepteur R associé à l'un des palpes maxillaires (appelé le poil Ss-II pour simplifier), (Ishikawa, 1966). Les méthodes électrophysiologiques utilisées pour cette expérience ont été les mêmes que celles décrites par Ishikawa (1966) et Shimizu et coll., 1995. La tête isolée a été fixée sur une électrode neutre en platine. La stimulation et l'enregistrement ont été démarrés simultanément au moment où l'électrode fut glissée sur la terminaison du poil au moyen d'un micromanipulateur. Le signal a été amplifié et observé sur un oscilloscope à rayon cathodique puis enregistré sur papier thermique.

La durée de stimulation a été de 4 sec. La fraction élue de l'HPLC a été dissoute dans une solution de NaCl à 5×10^{-2} M et les concentrations ont été exprimées en ppm.

RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 1 montre les impulsions libérées par les cellules réceptrices du palpe maxillaire de *Bombyx mori* en réaction aux glucosides dans une solution de NaCl (5×10^{-2} M). Les glucosides stimulent les cellules sensibles R des palpes maxillaires (Figs. 1D-E). Le nombre d'impulsions par seconde augmente lorsque la concentration de la solution augmente (Figs. 1D-E, respectivement).

Il n'est pas évident que les cellules sensibles aux glucosides soient les mêmes que celles d'Ishikawa (1966), appelées les cellules 'récepteur R' dans l'expérience actuelle.

La figure 2 donne la courbe de réponses aux doses des impulsions déchargées par les cellules R en réaction aux glucosides. La fréquence des décharges des impulsions R augmente en même temps que les concentrations de glucosides. Par conséquent, l'impulsion sensorielle des récepteurs R pourrait être responsable de l'inhibition de la prise de nourriture, plus particulièrement de celle de mordre (Hirao, 1978). Des rapports précédents ont montré que ces glucocides à 1000 ppm sont un agent inhibiteur de prise de nourriture pour *Bombyx mori*, d'après des expériences réalisées en administrant une alimentation artificielle simple contenant la fraction HPLC (Fig. 6 par Shimizu et coll., 1994).

D'après ces résultats, il a été montré que l'action antiappétante de ces glucosides, est en corrélation avec la prévention par le goût et que ces glucosides sont un agent inhibiteur faible pour le *Bombyx mori*.

Chez *Bombyx mori*, il est reconnu que les neurones des palpes maxillaires fonctionnent comme des organes chimiosensibles (Hirao et coll., 1992 ; Shimizu et coll., 1993 ; Shimizu et Yazawa, 1993 ; Shimizu et coll., 1994 ; Shimizu et coll., 1995). En conséquence, il est aisé d'étudier les agents inhibiteurs de prise de nourriture dans les plantes, en se basant sur nos connaissances actuelles chez *Bombyx mori*, comme il a été indiqué dans ces expériences.

**SEASONAL INTENSITY OF INFESTATION OF STEM BORER,
ZEUZERA INDICA HERRICH (LEPIDOPTERA): IN SOM,
MACHILUS BOMBYCINA KING AND SOALU, *LITSAEA*
POLYANTHA JUSS AND ITS CONTROL**

P. K. SINGH* & P.K. DAS

Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup, Assam-781 123, India.

Zeuzera indica Herrich is a serious pest of som, *Machilus bombycina* King and Soalu, *Litsaea polyantha* Juss which are primary food plants of the muga silkworm *Antheraea assama* cultivated for production of golden yellow silk for commercial exploitation. The insect bores into the stem and forms tunnels by destroying the xylem and phloem. The infestation of this pest prevails throughout the year in both food plants and reaches its peak during February (Som 51%, Soalu 61%). The correlation coefficient analysis revealed that the extent of infestation in Som and Soalu was negatively correlated ($r = -0.7355$ in Som, $r = -0.8118$ in Soalu) to average maximum temperature; ($r = -0.4733$ in Som, $r = -0.560$ in Soalu) and to relative humidity. For controlling this pest plugging of holes with cotton soaked in 1.5% Nuvan revealed most effective in reducing the infestation to the level of 95.26% which was highly significant at $P < 0.001$.

Keywords: *Zeuzera indica*, stem borer, seasonal intensity, Nuvan, control, som, soalu.

INTRODUCTION

The stem borer, *Zeuzera indica*, is a serious pest, infesting a wide range of plants. Another species, *Zeuzera multistrigata* is reported to infest *Machilus bombycina* and *Litsaea polyantha* (Thangavelu *et al.*, 1988). Grubs are found to be more destructive than the adults due to their chewing and burrowing type of mouth parts. The presence of grubs could be ascertained by the presence of a gummy substance secreted at the injured portion in the plant and the presence of brown pellets of chewed wood mixed with excreta lying on the ground.

MATERIALS AND METHODS

A randomised Block design was considered for the experiment with 20 blocks consisting of 200 plants each in *M. bombycina* and *L. polyantha*. The infestation percentage was assessed on the basis of the presence of grubs or on a number of holes made by the grubs on the trees. Observations on seasonal intensity were recorded monthly round the year in 1992 along with data on abiotic factors like maximum-minimum temperature and relative humidity. The data were statistically analysed to determine the coefficient of correlation between infestation of *Z. indica* and abiotic factors in relation to *M. bombycina* and *L. polyantha*.

As a control measure Nuvan (Nuvacron 76%) in different concentrations, i.e. 0.05%, 0.10%, 0.50%, 1.00%, 1.5% and 2% were considered as an earlier report (unpublished) indicates Nuvan as a

* Present address: Central Tasar Research and Training Institute, Field Laboratory Nagri, Ranchi-835303, Bihar (India). To whom correspondence should be addressed.

better chemical for controlling the infestation in comparison to others. The chemical was applied by plugging the holes with cotton soaked in different concentrations and only plain water was used for untreated plants for maintaining the control. The plugging was done with an iron stick 2mm in diameter.

The efficacy of different treatments was determined by recording the number of reappearances at the holes each month in addition to the presence of live grubs. The treatments were replicated three times with 100 som and 100 soalu plants per replication. The data were also statistically analysed to determine an effective control measure.

RESULTS AND DISCUSSION

The borer infestation was observed throughout the year in both food plants. The intensity of infestation was less during the rainy season (July to September), with peaks in February-March and January-February in *M. bombycina* and *L. polyantha*, respectively (Fig. 1). The peaks were closely related to the reproductive cycle of these species and immature forms were dominant during the infestation period. Usher (1976) stressed that cyclic processes are well-known in mammals but so far have not been demonstrated in insects; hence, these findings lend secondary support to the present investigation. Ryke and Loots (1969) established that growth and the preponderance of infestation was associated with fluctuations involving temperature and relative humidity. In the present results, the temperature and relative humidity were found to be negatively correlated to the extent of infestation (Table I) (-0.7375, -0.4733 in Som and -0.8118, -0.5609 in Soalu).

Table I. Coefficient of correlation between infestation of *Zeuzera indica* and abiotic factors in relation to *M. bombycina* (a) and *L. polyantha* (b) during 1992.

Tableau I. Coefficient de corrélation entre l'infestation par *Zeuzera indica* et les facteurs abiotiques chez *M. bombycina* (a) et *L. polyantha* (b) en 1992.

Abiotic factors	Food plant	No. of observations	$d \times dy$	x	y	Coefficient of correlation
Facteurs abiotiques	Plante hôte	Nbre d'observations				Coefficient de corrélation
1. Maximum temperature	a	12	-702.8329	4.0453	19.6292	-0.7375**
1. Température maximum	b	12	-820.98	4.0453	20.8314	-0.8118**
2. Minimum temperature	a	12	-379.0696	4.5463	19.6292	-0.3978 NS
2. Température minimum	b	12	-491.9750	4.5463	20.8314	-0.4328 NS
3. Relative humidity	a	12	-496.5356	4.4537	19.6292	-0.4733*
3. Humidité relative	b	12	-499.4374	4.4537	20.8314	-0.5609**

* Significant at $P < 0.1$ / *Significatif à $P < 0.1$* . ** Significant at $P < 0.05$ / *Significatif à $P < 0.05$* .

NS: Not significant / *Non significatif*.

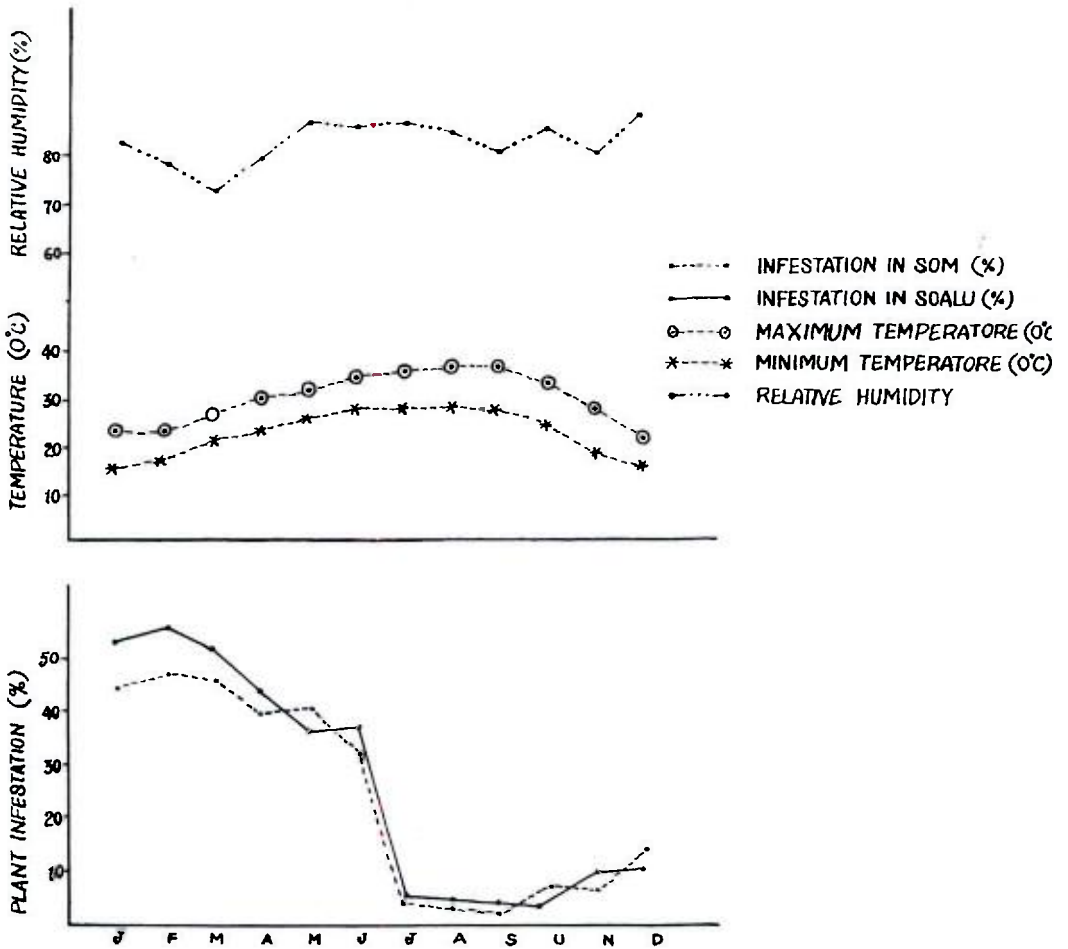


Fig. 1. Monthly infestation fluctuation of *Zeuzera indica* and related abiotic factors during 1992.

Fig. 1. Fluctuation mensuelle de l'infestation de *Zeuzera indica* et des facteurs abiotiques correspondants en 1992.

Table II. Efficacy of different concentrations of NUVAN for the control of stem borer *Zeuzera indica*.*Tableau II. Efficacité de différentes concentrations de NUVAN pour lutter contre la mineuse de la tige Zeuzera indica.*

Insecticide	Concentration	Mortality replication			Mean percentage of mortality \pm S.E.	Mean mortality and S.E. of replication
		I	II	III		
		<i>Répétition de la mortalité</i>			<i>Pourcentage moyen de mortalité \pm S.E.</i>	<i>Mortalité moyenne et S.E. de répétition</i>
		I	II	III		
NUVAN	0.05	12	10	9	30.39 \pm 1.03	10.33 \pm 0.72 a
NUVAN	0.10	10	12	14	35.29 \pm 2.77	12.00 \pm 0.94 a1
NUVAN	0.50	30	24	20	72.54 \pm 6.99	24.66 \pm 2.37 a2
NUVAN	1.00	25	32	32	86.27 \pm 5.26	29.66 \pm 1.78 a3
NUVAN	1.50	33	32	32	95.09 \pm 0.80	32.33 \pm 0.27 a4
Control/Témoin	Water / Eau	1	1	1	3.92 \pm 0.96	1.33 \pm 0.27 a5

Test probability different / test / *Test de différence de probabilité / test :*

a5 - a = P < 0.01	a - a1 = NS	a1 - a2 = P < 0.05	a2 - a3 = P < 0.50
a5 - a1 = P < 0.01	a - a2 = P < 0.05	a1 - a3 = P < 0.02	a2 - a4 = P < 0.01
a5 - a2 = P < 0.02	a - a3 = P < 0.01	a1 - a4 = P < 0.001	a3 - a4 = P < 0.001
a5 - a3 = P < 0.01	a - a4 = P < 0.001		
a5 - a4 = P < 0.001			

CONTROL

The study revealed that « all of the » treatments have effects above 50% over the control and show over 95% of the control in 1.5% and 2% Nuvan. In the control lot above 96% cases were found with the reopening of the holes in the trees. Data presented in table II show that treatment applications were significant over the control and the application of « 1.5% Nuvan » was highly significant (P < 0.001).

Metcalf and Flint (1962) recommended the use of PDCG (para dichlorobenzene in 1ml of Carbon bisulfide in alcohol). Pruthi and Batra (1960), in addition to their recommendation of PDCE, mentioned the possibility of using 0.1% D.D.T. in borer holes for effective control. In the present investigation it was recorded that 1.5% Nuvan can safely be used for the control of this pest, *Zeuzera indica*, and was highly effective.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are thankful to the CAB International Institute of Entomology British Museum London for the identification of this pest.

REFERENCES

- METCALF C.L, FLINT W.P. (1960): Destructive and useful insects D C Graw Hills Book Company, New York, 720-721 p.
- PRUTHI H.S., BATRA H.N. (1960) Some important fruit pests on North West Indian Counc. Agric. Res. Bull. 80-94p.
- RYKE P.A.J., LOOTS G. (1967) The composition of microarthropods fauna in South Africa, Soils. In progress. in Soil biology (Graff G. and Satchell J.E. ed) pp 538-546.
- THANGAVELU K., CHAKRABORTY A.K., BHAGOWATI A.K. & MD. ISA (1988) Hand book of muga culture, Central Silk Board publication , p 720-721.
- USHER M.B. (1976) Seasonal and vertical distribution of a population of soil arthropods = cryptostigmata, *Pedobiologia* 15(5) = pp 364-374.

INTENSITE SAISONNIERE ET LUTTE CONTRE L'INFESTATION PAR LA MINEUSE DE LA TIGE, *ZEUZERA INDICA* HERRICH (LEPIDOPTERA), CHEZ SOM, *MACHILUS BOMBYCINA* KING ET SOALU, *LITSAEA POLYANTHA* JUSS

P.K. SINGH* & P.K. DAS

Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup, Assam-781123, Inde.

Zeuzera indica Herrich est un sérieux parasite de Som, *Machilus bombycina* King et Soalu, *Litsaea polyantha* Juss. qui sont les nourritures principales du ver à soie muga *Antheraea assama*, élevé pour la production d'une soie jaune doré destinée à des fins commerciales. L'insecte creuse à l'intérieur de la tige et forme des tunnels qui détruisent le xylème et le phloème. L'infestation par ce parasite est présente tout au long de l'année à l'intérieur de ces plantes et atteint son apogée pendant le mois de février (Som 51 %, Soalu 61 %). L'analyse révèle que l'étendue de l'infestation de Som et Soalu est corrélée négativement proportionnelle à la moyenne de la température maximum ($r = -0,7355$ chez Som, $r = -0,8118$ chez Soalu) et à l'humidité relative ($r = -0,4733$ chez Som, $r = -0,560$ chez Soalu). Afin de lutter contre ce parasite, le colmatage des trous avec du coton imbibé de Nuvan à 1,5 % se révéla des plus efficaces pour réduire l'infestation à 95,26 %, ce qui est hautement significatif à $P < 0,001$.

INTRODUCTION

Le foreur de tiges, *Zeuzera indica*, est un sérieux parasite, qui infeste un large spectre de végétaux. Une autre espèce, *Zeuzera multistrigata* est connue pour infester *Machilus bombycina* et *Litsaea polyantha* (Thangavelu et coll., 1988). Les larves sont réputées pour être plus destructrices que les adultes en raison de leurs types de mandibules faits pour mâcher et creuser. La présence des larves peut être certifiée par la présence d'une substance gommeuse sécrétée au niveau de la partie lésée de la plante ainsi que par la présence de boulettes brunes de bois mâché mélangées à des excréments se trouvant sur le sol.

MATERIELS ET METHODES

Un échantillonnage aléatoire a été utilisé pour l'expérience avec 20 échantillons consistant en 200 plants chacun de *M. bombycina* et de *L. polyantha*. Le pourcentage d'infestation a été évalué sur la base de la présence de larves ou sur le nombre de trous faits par les larves sur les arbres. Des observations sur l'intensité saisonnière ont été enregistrées mensuellement au cours de l'année 1992 ainsi que des données sur les facteurs abiotiques tels que les températures maximum et minimum et l'humidité relative. Les données ont été statistiquement analysées afin de déterminer le coefficient de corrélation entre l'infestation par *Z. indica* et les facteurs abiotiques relatifs à *M. bombycina* et *L.*

* Adresse actuelle : Central Tasar Research and Training Institute, Field Laboratory Nagri, Ranchi - 835303, Bihar (Inde). Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

polyantha. Comme mesure de lutte, le Nuvan (Nuvacron 76 %) a été utilisé à des concentrations diverses, i. e. 0,05 %, 0,10 %, 0,50 %, 1,00 %, 1,5 % et 2 % comme le signale un rapport précédent (non publié). Ce rapport nous indique que le Nuvan est le produit chimique le plus performant pour lutter contre l'infestation, en comparaison avec d'autres. Le produit chimique a été administré en colmatant les orifices avec des tampons de coton imbibés de dilutions différentes et de l'eau claire a été utilisée sur des plants non traités à des fins de témoins. Le colmatage fut effectué à l'aide d'une tige en acier de 2 mm de diamètre.

L'efficacité des différents traitements a été déterminée en enregistrant mensuellement le nombre de réouvertures de trous ainsi que la présence de larves vivantes. Les traitements ont été répétés trois fois avec 100 plants de som et 100 de soalu par répétition. Les données ont également été analysées afin de déterminer une mesure de lutte efficace.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'infestation par le foreur a été observée tout au long de l'année chez les deux plantes. L'intensité de l'infestation était plus faible pendant la saison des pluies (de juillet à septembre), avec des pics de février à mars et de janvier à février chez *M. bombycina* et *L. polyantha*, respectivement (Fig 1). Les pics sont clairement liés au cycle de reproduction de ces espèces et des formes immatures sont dominantes pendant la période d'infestation. Usher (1976) insista sur le fait que les processus cycliques sont bien connus chez les mammifères, mais qu'ils n'ont pas encore été observés chez les insectes ; c'est pourquoi il est nécessaire d'effectuer une étude supplémentaire à l'investigation actuelle. Ryke et Loots (1969) établirent que la croissance et la prépondérance de l'infestation était associées à des fluctuations comprenant la température et l'humidité relative. Dans les résultats présents, il a été remarqué que la température et l'humidité relative étaient en corrélation négative avec l'étendue de l'infestation (Tableau 1) (-0,7375, -0,4733 chez Som et -0,8118, -0,5609 chez Soalu).

LUTTE

L'étude révéla que 'tous' les traitements sont efficaces à plus de 50 % par rapport aux témoins et que le traitement à 1,5 % et 2 % de Nuvan était efficace à plus de 95 % par rapport aux témoins. Sur le total des témoins, plus de 96 % des cas ont présenté une réouverture des trous dans les arbres. Les données présentées dans le tableau II indiquent que les applications du traitement sont significatives par rapport aux témoins et que l'application de 1,5 % de Nuvan est hautement significative ($P < 0,001$).

Metcalf et Flint (1962) recommandèrent l'utilisation de PDCG (para dichlorobenzene dans 1 ml de bisulfide de carbone dans de l'alcool). Pruthi et Batra (1960), outre leur recommandation d'utiliser du PDCE, mentionnèrent la possibilité d'appliquer 0,1 % de D.D.T. dans les trous forés pour un contrôle optimum. Pour lutter contre le parasite *Zeuzera indica*, nous montrons dans l'étude actuelle, que 1,5 % de Nuvan pouvait non seulement être utilisé sans danger, mais qu'il était même hautement efficace.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	145
General sericulture	
Mûrier	147
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	151
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	153
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	155
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	159
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : oeufs, embryologie	163
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	165
Silkworms: silk glands	
Soie	167
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) Portuguais / <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

Sericulture in Tamil Nadu: MR2 and disease management needs.

Sériciculture au Tamil Nadu : MR2 et besoins de gestion des maladies.

CHANDRASHEKAR D.S., RAJADURAI S.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570008, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 8-10. (E)

Silkworms as indicators of environmental contamination with diofenolan and fenoxycarb.

Vers à soie comme indicateurs de la contamination environnementale par le diofénoLANE et le fénoXYCARBE.

GROUT T.G.

P.O. Box 28, Nelqpruit, 1200 South Africa.

1998 African Entomology, Vol. 6(1), 149-151. (E)

Silk industry of Meghalaya.

Industrie de la soie de Meghalaya.

MISHRA S.N.

TSTS, Central Silk Board, Swalkuchi, Assam, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 27-28. (E)

Reeling of uzi pierced cocoons.

Dévidage des cocons percés par uzi.

RAJU M. *et al.*

Sericulture College, Chintamani, Kolar District, Karnataka, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 25-26. (E)

BL24 x NB4D2: a new hybrid gains popularity.

BL24 x NB4D2 : gains de popularité d'un nouvel hybride.

RAMA MOHANA P. *et al.*

Research Extension Centre, Madivala, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(1), 9-10. (E)

Augmentation of muga food plants - A success story.

Augmentation des plants de muga - Une histoire à succès.

SIDDIQUI A.A., DAS P.K.

P3 Basic Seed Farm, Maira, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 19-21. (E)

Ex situ conservation of the oldest mulberry tree.

Conservation ex situ du plus vieux mûrier.

TIKADER A. *et al.*

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Hosur, Tamil Nadu, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 17-18. (E)

Mûrier

Mulberry

Adaptability of mulberry plantlets regenerated *in vitro* to outdoor conditions.

Adaptabilité des plants de mûrier régénérés *in vitro* aux conditions extérieures.

ADACHI T. *et al.*

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Goshokaido, Sakyo, Kyoto 606-0962, Japan.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(2), 161-163. (E)

Proportional relationship between intercepted solar radiation and dry matter production in a mulberry field.

Rapports proportionnels entre les radiations solaires interceptées et la production de matière sèche dans un champ de mûriers.

AQUEEL A., ITO D., NAOI T.

Laboratory of Agronomy, Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, 570-008, India.

1999 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 21, 1-12. (E,j)

Mulberry cultivation in coastal saline soil of West Bengal.

Culture de mûrier dans les sols salés des zones côtières du Bengal ouest.

CHAKRABORTI S.P. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742101, West Bengal, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(2), 5-7 (E)

Screening methods of antagonistic microorganisms to twig blight-fungi of mulberry using mulberry callus.

Méthodes de criblage des microorganismes antagonistes du champignon provoquant la flétrissure des brindilles de mûrier utilisant les calcs de mûrier.

IKEDA K. *et al.*

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

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(2), 119-123. (E)

Study for obtaining tetraploid mulberry by colchicine treatment.

Etude pour l'obtention de mûrier tétraploïde par traitement à la colchicine.

KIM K.P. *et al.*

1998 *Choson Minjujuui Inmin Konghwaguh Kwahagwon Tongbo*, Vol. 2, 55-56.

Breeding of a new mulberry cultivar, Senshin.

Reproduction d'un nouveau cultivar de mûrier, Senshin.

KOYAMA A. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki, 305-8634, Japan.

1999 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 21, 81-117. (E,j)

Changes in protein metabolism induced by water deficit stress in mulberry (*Morus alba*).

Changement du métabolisme des protéines induit par le stress dû au manque d'eau chez le mûrier (*Morus alba*).

KUMARJ B.D.

1998 *Geobios*, Vol. 25(2/3), 133-136. (E)

Fruit traits of genetic mulberry resources.

Caractéristiques des fruits des ressources génétiques de mûriers.

MACHII H. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8635, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 145-155. (E)

Response of mulberry varieties to spacing and nitrogen levels under rainfed condition.

Réponse des variétés de mûrier à l'espacement et aux niveaux d'azote en absence d'irrigation.

PATRA K.N., SHANKAR M.A.

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore, 560 065, India.

1998 *Mysore J. agric. Sci.*, Vol. 32(1), 51-54. (E)

Photosynthetic characteristics in mulberry during water stress and rewatering.

Caractéristiques de la photosynthèse chez les mûriers pendant le stress hydrique et le réarrosage.

RAMANJULU S. *et al.*

1998 *Photosynthetica*, Vol. 35(2), 259-263. (E)

Effect of water stress on photosynthesis in two mulberry genotypes with different drought tolerance.

Effet du stress hydrique sur la photosynthèse chez deux génotypes de mûriers avec une tolérance différente à la sécheresse.

RAMANULU S., SREENIVASULU N., SUDHAKAR C.

1998 *Photosynthetica*, Vol. 35(2), 279-283. (E)

Plant polysaccharides. 7/ Polysaccharides of *Morus* and their hypoglycemic activity.

Polysaccharides des plantes. 7/ Polysaccharides de *Morus* et leur activité hypoglycémique.

SANASOVA M.K., RAKHIMOV D.A.

1997 *Chem. Nat. Compd.*, Vol. 33(6), 617-619. (E)

Mulberry chlorine nutrition and influence of applying chlorine on quantity and quality of mulberry leaf.

Nutrition en chlore des mûriers et influence de l'application de chlore sur la quantité et la qualité des feuilles de mûrier.

SHEN G. *et al.*

1997 *Zhejiang Nongye Daxue Xuebao*, Vol. 23(3), 313-316.

Impact of potassium on the qualitative parameters of mulberry.

Impact du potassium sur les paramètres de qualité des mûriers.

SHRIHARSHA S.A., SHANKAR M.A., DEV G.

Department of Sericulture, U.S.A., G.K.V.K., Bangalore, 560 065, India.

*1998 Mysore J. agric. Sci., Vol. 32(1), 31-37. (E)***Effect of temperature-moisture combination on the pupation and emergence of mulberry gall-midge *Giadomyia* sp. in North Guangdong.**Effet de la combinaison température-humidité sur la nymphose et l'émergence de la galle du puceron de mûrier *Giadomyia* sp. dans le nord du Guangdong.TAN B. *et al.**1999 Canye Kexue, Vol. 25(1), 60-62. (C)***Antioxidative mechanism of methanolic extract from mulberry leaves.**

Mécanisme antioxydant de l'extrait de méthanol des feuilles de mûrier.

WU S., YEN G.

*1998 Shipin Kexue, Vol. 41(2), 128-137.***Statistical study of fluoride accumulation regularity on mulberry leaves.**

Etude statistique de la régularité de l'accumulation de fluorure sur les feuilles de mûrier.

XU W., YAN Y., WU F.

*1998 Huanjing Wuran Yu Fangzhi, Vol. 20(3), 19-21.***Nutrient composition and characteristics of the seeds and the seed-oil of *Morus alba* L.**Composition nutritive et caractéristiques des graines et de l'huile de graines de *Morus alba* L.

YANG X., ZHOU J., MA W.

*1998 Zhongguo Liangyou Xuebao, Vol. 13(4), 43-45.***Determination of fluoride in mulberry leaf with fluoride ion selective electrode.**

Détermination de fluorure dans les feuilles de mûrier avec une électrode sélectionnant les ions fluorure.

ZHANG Y.

*1998 Huaxue Chuanganqi, Vol. 18(2), 69-72.***Polymorphism studies on genomic DNA of diploids and polyploids in mulberry.**

Etudes du polymorphisme de l'ADN génomique des diploïdes et polydiploïdes chez le mûrier.

ZHANG Y. *et al.**1998 Zhejiang Nongye Daxue Xuebao, Vol. 24(11), 79-81.***Mechanism of prevention and cure of mulberry dwarf disease with TS mixture.**

Mécanisme de prévention et traitement de la maladie du nanisme du mûrier avec le mélange TS.

ZHOU L. WU E.

1998 Shandong Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, Vol. 33(3), 340-344.

Bombyx mori : élevage, nutrition, pathologie

Bombyx mori: rearing, feeding, pathology

Influence of mulberry varieties on pupal oil yield of different breeds of silkworm *Bombyx mori* L.

Influence des variétés de mûrier sur le rendement de l'huile de chrysalides de différentes races de ver à soie *Bombyx mori* L.

CHINNASWAMY K.P. *et al.*

Department of Sericulture, UAS, G.K.V.K., Bangalore 560 065, India.

1998 *Mysore J. agric. Sci.*, Vol. 32(1), 18-22. (E)

Effect of the carboxyl-terminal portion of CryIAb in *Bacillus thuringiensis* on toxicity against the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de la partie carboxy terminale de CryIAb chez *Bacillus thuringiensis* sur la toxicité vis à vis du ver à soie, *Bombyx mori*.

KIM Y.S. *et al.*

1998 *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 33(3), 473-477. (E)

Controlling Uzi through hyperparasitoids.

Contrôle de la mouche Uzi grâce aux hyperparasitoïdes.

PAI I.K.

Department of Zoology, Goa University, Goa, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(1), 11-12. (E)

Detection of pebrine like contaminants during mother moth examination.

Détection de contaminants ressemblant à la pébrine pendant l'examen des papillons femelles.

PRASAD N.R. *et al.*

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

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(2), 15-16. (E)

Present and future perspectives in silkworm breeding research.

Perspectives présentes et futures du breeding des vers à soie.

RAJU P.J.

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

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(2), 11-14. (E)

Effect of long-term cold storage of male pupae and moth on reproductive ability of sperm in the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet d'un long stockage au froid des chrysalides mâles et des papillons sur la qualité du sperme chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

TAKEMURA Y. *et al.*

Institute of Silkworm Genetics and Breeding 1053, Iikura Amimachi, Ibaraki, 300-0324 Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 133-137. (E)

Effect of tropine derivatives, antimuscarinic agents, on the growth of *Bombyx mori* larvae.

Effet des dérivés de tropine, agents antimuscariniques, sur la croissance de la larve de *Bombyx mori*.

TOYOMURA N., KUWANO E.

1998 *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 62, 2046-2048. (E)

Breeding of the silkworm race, Hakugin, with superthin cocoon filament.

Breeding de vers à soie de race Hakugin avec un filament très fin.

YAMAMOTO T. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Matsumoto, Nagano 390-0812, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 125-132. (E)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Grainage behaviour of ecorace Bhandara.

Comportement de grainage de l'écorace Bhandara

JAIPAL REDDY K.

Regional Tasar Research Station, Bhandara, Maharashtra, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(1), 13-20. (E)

Improvement of mating method for the wild silkworm, *Bombyx mandarina*.

Amélioration de la méthode d'accouplement pour le ver à soie sauvage, *Bombyx mandarina*.

NAKAMURA T., BANNO Y., KAWAGUCHI Y., KOGA K.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(2), 165-166. (J)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

Sequence analysis of the genome of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.

Séquençage du génome du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

GOMI S., MAJIMA K., MAEDA S.

Department of Entomology, University of California, Davis, CA 95616, USA.

1999 *Journal of General Virology*, Vol. 80, 1323-1337. (E)

The p95 gene of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus: temporal expression and functional properties.

Le gène p95 du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* : expression temporelle et propriétés fonctionnelles.

IATROU K., SWEVERS L., LU M

Department of Medical Biochemistry, The University of Calgary, Calgary, Alberta T2N 4N1, Canada.

1998 *J. Virol.*, Vol. 72(6), 4789-1797. (E)

Cloning and expression of a novel gene encoding a new antibacterial peptide from silkworm, *Bombyx mori*.

Clonage et expression d'un nouveau gène codant un nouveau peptide antibactérien chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

KIM S.H. *et al.*

1998 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 246, 388-392. (E)

Studies on the mechanism of variation of hybrids of domesticated silkworm and Eri silkworm - RAPD analysis of genome.

Etudes sur le mécanisme de variation des hybrides des vers à soie domestiques et des vers à soie Eri - Analyse du génome par RAPD.

LIU C. *et al.*

1998 *Yichuan*, Vol. 20(2), 5-8.

Cloning and expression of the vp39 gene of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus in *E. coli*.

Clonage et expression du gène vp39 du virus de polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* chez *E. coli*.

LIU D. *et al.*

1998 *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.*, Vol. 3(1), 108-112. (E)

Comparison of sequences of a transcriptional coactivator MBF2 from three lepidopteran species, *Bombyx mori*, *B. mandarina* and *Samia cynthia*.

Comparaison des séquences d'un coactivateur transcriptionnel MBF2 de trois espèces de lépidoptères, *Bombyx mori*, *B. mandarina* et *Samia cynthia*.

LIU Q. *et al.*

1998 *Gene*, Vol. 220(1/2), 55-59. (E)

A defective type of non-LTR retrotransposon, BMC1, is a useful candidate as a vector for gene introduction into cultured cells of silkworm, *Bombyx mori*.

Un type défectif de rétrotransposon non-LTR, BMC1, est un candidat comme vecteur pour l'introduction de gènes dans des cellules cultivées du ver à soie, *Bombyx mori*.

OKANO K. *et al.*

1998 *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 33(2), 243-254. (E)

Cloning and characterization of the TATA-binding protein of the silkworm *Bombyx mori*.

Clonage et caractérisation de la protéine de liaison TATA du ver à soie *Bombyx mori*.

OUYANG C., SPRAGUE K.U.

1998 *Gene*, Vol. 221, 207-213. (E)

Gene transfer in silkworm *Bombyx mori* via electroporation.

Transfert de gène chez le ver à soie *Bombyx mori* par électroporation.

SHAMILA Y., MATHAVAN S.

1998 *Biotechnol.*, Vol.12(7), 507-510. (E)

Isolation and characterization of a temperature-sensitive mutant of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus for a putative RNA polymerase gene.

Isolement et caractérisation d'un nucléopolyédrovirus de *Bombyx mori* thermosensible mutant pour un gène de polymérase.

SHIKATA M. *et al.*

1998 *J. Gen. Virol.*, Vol. 79(8), 2071-2078. (E)

Construction of a cosmid library and physical mapping of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus genome.

Construction d'une bibliothèque de cosmides et d'une carte physique du génome du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

SHIKATA M. *et al.*

1998 *Microbiologica*, Vol. 21(3), 259-262. (E)

Cloning of gene encoding the visual pigments in the silkworm, *Bombyx mori*.

Clonage de gènes codant pour les pigments visuels chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

SHIMIZU I. *et al.*

1998 *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 33(1), 199-204. (E)

Absence of dosage compensation at the transcription level of a sex linked gene in a female heterogametic insect, *Bombyx mori*.

Absence de compensation de dosage au niveau de la transcription d'un gène lié au sexe chez la femelle hétérogamétique de *Bombyx mori*.

SUZUKI M.G. *et al.*

1998 *Heredity*, Vol. 81, 275-283. (E)

Molecular cloning of a cDNA encoding a silkworm protein that contains the conserved BH regions of Bcl-2 family proteins.

Clonage moléculaire d'un ADNc codant une protéine de ver à soie contenant les régions BH conservées des familles de protéines Bcl-2.

TABUNAN J. *et al.*

1998 *Gene*, Vol. 212, 287-293. (E)

Distribution of Bm1, a SINE type transposable element, in cecropin B genes of the silkworm, *Bombyx mori*.

Distribution de Bm1, un élément transposable de type SINE, dans les gènes de cécropine B du ver à soie, *Bombyx mori*.

TANIAI K., YAMAKAWA M.

1998 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 119B, 813-817. (E)

Genetics analysis on morphological differences in the occlusion body of *Bombyx mori* cytoplasmic-polyhedrosis virus.

Analyses génétiques des différences morphologiques des corps d'occlusion du virus de la polyhédrose cytoplasmique de *Bombyx mori*.

TOMITA M. *et al.*

1994 *Protein Rng.*, Vol. 7, 1156. (E)

Molecular cloning of cDNA for BRab from the brain of *Bombyx mori* and biochemical properties of BRab expressed in *Escherichia coli*.

Clonage moléculaire d'ADNc pour BRab à partir du cerveau de *Bombyx mori* et propriétés biochimiques de BRab exprimées chez *Escherichia coli*.

UNO T. *et al.*

1998 *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 62, 1885-1891. (E)

Expression of human 17B-hydroxy-steroid dehydrogenase gene in *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus system.

Expression du gène de la 17B hydroxy stéroïdes déshydrogénase humaine dans le système du virus de la polyhédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

WANG J., JIN W., WU X.

1997 *Shiyao Shengwu Xuebao*, Vol. 30(4), 461-465.

Studies on replication banding patterns of silkworm (*Bombyx mori*) chromosomes.

Etudes sur la répllication des profils de bandes des chromosomes du ver à soie (*Bombyx mori*).

WANG Y. *et al.*

1998 *Kunchong Xuebao*, Vol. 41(3), 237-242.

The morphology of the polyhedra of a host range-expanded recombinant baculovirus and its parents.

Morphologie du polyédre d'un baculovirus recombinant et de ses parents.

WOO S.D. *et al.*

1998 *Arch. Viro.*, Vol. 143(6), 1209-1214. (E)

Molecular phylogenetic study on the racial differentiation of *Bombyx mori* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers.

Etude phylogénétique moléculaire sur la différenciation raciale de *Bombyx mori* par RAPD.

XIA Q. *et al.*

1998 *Kunchong Xuebao*, Vol. 41(1), 32-40.

Analysis of defective genomes of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus generated by serial undiluted passage in cell culture.

Analyse de génomes défectueux de nucléopolyédrovirus de *Bombyx mori* générés par une série de passages dans les cultures de cellules.

YAANSE T., HASHIMOTO Y., MATSUMOTO T.

1998 *Acta Virol.*, Vol. 72(2), 65-70. (E)

Construction and characterization of bacterial artificial chromosome libraries from the silkworm, *Bombyx mori*.

Construction et caractérisation des banques de chromosomes bactériens artificiels à partir du ver à soie, *Bombyx mori*.

YASUKOCHI Y. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

1999 *Mol. Gen. Genet.*, Vol. 261, 698-706. (E)

Cloning of two *Bombyx* homologs of the *Drosophila rosy* gene and their relationship to larval translucent skin color mutants.

Clonage de deux homologues du gène *rosy* de la *Drosophile* chez *Bombyx* et leur relation avec les mutants de la couleur de la peau translucide.

YASUKOCHI Y., KANDA T., TAMURA T.

1998 *Genet. Res.*, Vol. 71(1), 11-19. (E)

A novel member of the bombyxin gene family: structure and expression of bombyxin G1 gene, an insulin-related peptide gene of the silkworm, *Bombyx mori*.

Un nouveau membre de la famille des gènes de bombycine : structure et expression du gène de bombycine G1, gène d'un peptide apparenté à l'insuline, chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

YOSHIDA I. *et al.*

1998 *Dev. Genes Evol.*, Vol. 208(7), 407-410. (E)

Determination of the nucleotide sequence of *Bombyx mori* cytoplasmic polyedrosis virus segment 9 and its expression in BmN4 cells.

Détermination de la séquence nucléotidique du segment 9 du virus de la polyédrose cytoplasmique de *Bombyx mori* et son expression dans les cellules BmN4.

YOSHIMURA T. *et al.*

Faculty of Engineering, Mie University, Mie 514-8507, Japan.

1998 *J. Virol.*, Vol. 72(7), 5762-5768. (E)

Nucleotide sequence, transcription and deletion analysis of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus protein kinase gene.

Séquence de nucléotides, transcription et analyse par délétion du gène de la protéine-kinase du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

ZHANG Y.

1998 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 30(2), 185-190.

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Effect of starvation on fenoxycarb-treated fifth instar larvae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera Bombycidae).

Effets du jeûn sur les larves de cinquième âge de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera Bombycidae) traitées au fénoxycarbe.

CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S.

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura di Padova, Padova, Italy.

1997 *Redia*, Vol. 80, 147-155. (E)

Modification of the nutritional parameters and of midgut biochemical and absorptive functions induced by the IGR fenoxycarb in *Bombyx mori* larvae.

Modification des paramètres nutritionnels et biochimiques de l'intestin moyen et des fonctions absorbantes induite par le fénoxycarbe chez la larve de *Bombyx mori*.

CAPPELLOZZA S. *et al.*

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura, Padova, Italy.

1998 *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 39, 18-35. (E)

Analysis of the enzyme activities on the vitamin B6 metabolism in the silkworm, *Bombyx mori*.

Analyse des activités enzymatiques sur le métabolisme de la vitamine B6 chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

HUANG L. *et al.*

United Graduate School of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 103-109. (E)

ATPase activity in tissues of silkworms in the normal state and with nematosis.

Activité ATPase dans les tissus des vers à soie à l'état normal et avec nématoses.

KHOZHIMATOV O.K.

1997 *Dokl. Akad. Nauk. resp. Uzb.*, Vol. 6, 41-43. (E)

GC-MS analysis of fatty acid composition in silkworm pupa oil.

Analyse GC-MS de la composition en acides gras de l'huile de chrysalide de ver à soie.

LU P. *et al.*

1998 *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, Vol. 33(3), 138-140.

4'-OH-JH-III: an additional hydroxylated juvenile hormone produced by locust corpora allata in vitro.

4'-OH-JH-III : une hormone juvénile additionnelle hydroxylée produite par le corps allate du criquet in vitro.

MAUCHAMP B. *et al.*

Unité Nationale Séréricole, 25 quai Jean Jacques Rousseau, 69350 La Mulatière, France.

1999 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 29, 475-480. (E)

Minimum structure of peptidoglycan required for induction of antibacterial protein synthesis in the silkworm, *Bombyx mori*.

Structure minimum de peptidoglycan nécessaire pour l'induction de la synthèse de la protéine antibactérienne chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

MORISHIMA I. *et al.*

Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori 680, Japan.

1999 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 29, 19-24. (E)

Relationship between viscometric behavior and blood component of the silkworm (*Bombyx mori*) blood.

Relation entre le comportement visqueux et les composants sanguins du sang de ver à soie (*Bombyx mori*).

NAKAMURA T., MINESHITA T.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 157-161. (J)

Inhibitors of sensillar esterase reversibly block the responses of moth pheromone receptor cells.

Des inhibiteurs d'estérase bloquent de manière réversible les réponses des cellules réceptrices à la phéromone des papillons.

POPHOF B.

1998 *J. Comp. Physiol. A*, Vol. 183(2), 153-164. (E)

Extraction, separation and identification of amino acid components in semen of male silk moths.

Extraction, séparation et identification des acides aminés présents dans le sperme des papillons mâles.

PU H. *et al.*

1997 *Yanbian Daxue Yixue Xuebao*, Vol. 20(3), 147-148.

Isolation and partial characterization of chromoprotein from the larval hemolymph of the japanese oak silkworm (*Antheraea yamamai*).

Isolement et caractérisation partielle des chromoprotéines de l'hémolymphe de la larve du ver à soie japonais du chêne (*Antheraea yamamai*).

SAITO H., YAMADA H., KATO Y.

1998 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 119B, 625-630. (E)

Day to day changes in the cholinergic system during the 5th instar of the uzi-infested silkworm *Bombyx mori*.

Changements journaliers dans le système cholinergique pendant le 5e âge du ver à soie *Bombyx mori* infecté par uzi.

SASIKALA K., SREENIVASULU K., MOHAN P.M.

1998 *J. Adv. Zool.*, Vol. 19(1), 5-10. (E)

Phe-X-Pro-Arg-LeuNH₂ peptide producing cells in the nervous system of the silkworm, *Bombyx mori*.

Cellules produisant le peptide Phe-X-Pro-Arg-LeuNH₂ dans le système nerveux du ver à soie, *Bombyx mori*.

SATO Y. *et al.*

1998 *J. Insect. Physiol.*, Vol. 44, 333-342. (E)

A hydrophobic peptide (VAP-peptide) of the silkworm, *Bombyx mori*: a unique role for adult activity proposed from gene expression and production at the terminal phase of metamorphosis.

Un peptide hydrophobe (peptide-VAP) du ver à soie, *Bombyx mori* : un rôle unique pour l'activité adulte proposée à partir de l'expression du gène et la production en phase terminale de la métamorphose.

SHIOMI K. *et al.*

1998 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 28, 671-676. (E)

Insect cold tolerance: How many kinds of frozen?

Tolérance des insectes au froid : Combien de types de gélation ?

SINCLAIR B.J.

Department of Zoology, University of Otago, PO Box 56, Dunedin, New Zealand.

1999 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 96(2), 157-164. (E)

Rescue of oq, og and ogt mutants by injection of xanthine oxidase.

Sauvetage des mutants oq, og et ogt par injection de xanthine-oxydase.

TAMURA T. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 111-117. (E)

Plasmid-mediated gene transfer between insect-resident bacteria, *Enterobacter cloacae*, and plant-epiphytic bacteria, *Erwinia herbicola*, in guts of silkworm larvae.

Transfert de gène par plasmide entre la bactérie d'insecte, *Enterobacter cloacae*, et la bactérie de plante épiphytique, *Erwinia herbicola*, dans les intestins de la larve de ver à soie.

WATANABE K., SATO M.

1998 *Curr. Microbiol.*, Vol. 37(5), 352-355. (E)

The activity of catalase in hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori* (L.) and its relation to larval resistance.

L'activité de la catalase dans l'hémolymphe du ver à soie, *Bombyx mori* (L.) et ses relations avec la résistance larvaire.

WU X., XU J., CUI W.

1998 *Kunchong Xuebao*, Vol. 41(2), 124-129.

The regulation of the DH-PBAN gene expression in *Bombyx mori*.

La régulation de l'expression du gène DH-PBAN chez *Bombyx mori*.

XU W.

1998 *Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao*, Vol. 14(5), 557-561.

cDNA cloning and gene expression of cecropin D, an antibacterial protein in the silkworm, *Bombyx mori*.

Clonage d'ADNc et expression du gène de cécropine D, une protéine antibactérienne chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

YAMAKAWA M. *et al.*

Laboratory of Biological Defense, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

1999 Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. 122(part B), 409-414. (E)

Isolation and characterization of prophenoloxidase isoforms from the silkworm, *Bombyx mori* (a80 strain).

Isolement et caractérisation des isoformes de prophénoloxydase du ver à soie, *Bombyx mori* (souche a80).

YAMAMOTO K. *et al.*

Laboratory of Protein Chemistry and Engineering, Graduate School of Genetics Resources Technology, Japan.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(1), 65-72. (J,e)

Antioxidative activity of ethanolic extracts of cocoon shell.

Activité antioxydative des extraits d'éthanol de la coque des cocons.

YAMAZAKI M. *et al.*

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(2), 167-169. (J)

The Raman spectra of the antibacterial peptide b-component of silkworm (*Bombyx mori*) pupae in aqueous solution.

Le spectre Raman du composant b du peptide antibactérien de la chrysalide de ver à soie (*Bombyx mori*) en solution aqueuse.

ZHANG S. *et al.*

1998 High Technol. Lett., Vol. 4(1), 101-104. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Induction of cryoprotectants and lower supercooling points in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, by a synthetic diapause hormone.

Induction de cryoprotecteurs et abaissement des points de congélation dans les oeufs de vers à soie, *Bombyx mori*, par une hormone de diapause synthétique.

ADACHI T. *et al.*

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsygasaki, sakyō-ku, Kyoto 606-8585, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol.68(2), 93-101. (E)

Oviposition by female moth transplanted ovary frozen in combination with artificial insemination with frozen sperm in the silkworm, *Bombyx mori* and their offspring.

Oviposition par un papillon femelle ayant un ovaire transplanté préalablement congelé en combinaison avec l'insémination artificielle de sperme congelé chez le ver à soie. *Bombyx mori* et obtention de la progéniture.

MOCHIDA Y. *et al.*

Institute of Silkworm Genetics and Breeding Iikura, Ami-machi, Inashiki, Ibaraki, 300-0324, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(2), 139-144. (E)

A hydrophobic peptide (VAP-peptide) of the silkworm, *Bombyx mori*. Structure, expression and an enhancing function of diapause hormone activity.

Un peptide hydrophobe (peptide-VAP) du ver à soie, *Bombyx mori*. Structure, expression et fonction augmentant l'activité de l'hormone de diapause.

SHIOMI K. *et al.*

1998 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 28(2), 75-82. (E)

Studies on the embryonic diapause of the *pnd* mutant of the silkworm, *Bombyx mori*. I. Responsiveness of the ovaries to the diapause factor.

Etudes sur la diapause embryonnaire du mutant *pnd* du ver à soie *Bombyx mori*. I. Réactivité des ovaires au facteur diapausant.

SONOBE H.

Department of Biology, Faculty of Science, Konan University, Kobe 658, Japan.

1984 *Mem. Konan Univ., Sci. Ser.*, Vol. 31(2), 95-103. (E)

Studies on embryonic diapause in the *pnd* mutant of the silkworm, *Bombyx mori*: II. Genetic control of embryogenesis.

Etudes sur la diapause embryonnaire chez le mutant *pnd* du ver à soie, *Bombyx mori* : contrôle génétique de l'embryogenèse.

SONOBE H., MAOTANI K., NAKAJIMA H.

Department of Biology, Faculty of Science, Konan University, Higashinada-ku, Kobe 658, Japan.

1986 *J. Insect Physiol.*, Vol. 32(3), 215-220. (E)

Studies on the embryonic diapause of the *pnd* mutant of the silkworm, *Bombyx mori*. III. Accumulation of alanine in the diapause eggs.

Etudes sur la diapause embryonnaire du mutant *pnd* du ver à soie *Bombyx mori*. III. Accumulation d'alanine dans les oeufs diapausants.

SONOBE H., OKADA Y.

Department of Biology, Faculty of Science, Konan University, Higashinada-ku, Kobe 658, Japan.

1984 *Roux's Arch. Dev. Biol.*, Vol. 193, 414-417. (E)

Effects of photoperiod and temperature on seasonal morph development and diapause egg oviposition in a bivoltine race (Daizo) of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Effets de la photopériode et de la température sur le développement saisonnier et l'oviposition des oeufs diapausants chez une race bivoltine (Daizo) de ver à soie, *Bombyx mori* L.

TSURUMAKI J. *et al.*

1999 *J. Insect Physiol.*, Vol. 45, 101-106. (E)

Molecular mechanism of diapause in insect. 1/ Expression of diapause hormone gene and incubation temperature in embryonic stage of *Bombyx mori*.

Mécanisme moléculaire de la diapause chez l'insecte. 1/ Expression du gène de l'hormone de diapause et température d'incubation au stade embryonnaire de *Bombyx mori*.

XU W. *et al.*

1998 *Sci. China, Ser. C Life Sci.*, Vol. 41(4), 344-350.

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Intracellular electrolyte levels and transport of secretory granules in exocrine gland cells.

Niveaux d'électrolytes intracellulaires et transport des granules sécrétoires dans les cellules de la glande exocrine.

SASAKI S. *et al.*

1998 *J. exp. Biol.*, Vol. 201, 1273-1281. (E)

Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by *Bombyx mori*.

Détermination du site de liaison disulfure entre les chaînes lourdes et légères de la fibroïne de soie produite par *Bombyx mori*.

TANAKA K. *et al.*

Laboratory of Molecular Biology, Tohoku University, 1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi, Aoba-ku, Sendai 981-8555, Japan.

1999 *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1432, 92-103. (E)

Soie

Silk

Swelling and dissolution of silk fibroin (*Bombyx mori*) in N-methyl morpholine N-oxide.

Gonflement et dissolution de la fibroïne de soie (*Bombyx mori*) dans le N-oxyde morpholine N-méthyl.

FREDDI G., PESSINA G., TSUKADA M.

Stazione Sperimentale per la Seta, Via G. Colombo, 83, 20133 Milano, Italy.

1999 *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24, 251-263. (E)

Effect of vegetable dyes on physical properties of Eri silk after mordanting.

Effets des colorants végétaux sur les propriétés physiques de la soie Eri après mordantage.

GOGOI A.

College of Home Science, Assam Agriculture University, Jorhat, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(1), 21-24. (E)

Application of silk proteins to new biomaterials.

Application des protéines de soie comme nouveaux biomatériaux.

KURIOA A.

1998 *Zairyo Gijutsu*, Vol. 16(5), 195-201.

Structure et fonction de la fibroïne de soie.

Structure et fonction de la fibroïne de soie.

LIU D. *et al.*

1998 *Gaofenzi Tongbao*, Vol. 3, 17-23, 50.

On release performance of 5-fluorouracil fixed on silk fibroin membrane.

Larguage de 5-fluorouracil fixé sur une membrane de fibroïne de soie.

LU D. *et al.*

1997 *Zhejiang Sichou Gongxueyuan Xuebao*, Vol. 14(4), 277-281.

Study on the acid hydrolysis of silkworm chrysalis protein by semi-dry process with microwave radiation.

Etude de l'hydrolyse acide des protéines de chrysalides de ver à soie par le procédé mi-sec avec des radiations micro-ondes.

LU R., JIANG X.

1998 *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, Vol. 10(2), 71-74.

Rotational-echo double-resonance in complex biopolymers: a study of *Nephila clavipes* dragline silk.

Doublé-résonance de l'écho-rotationnel dans les biopolymères complexes : une étude de la soie de toile d'araignée de *Nephila clavipes*.

MICHAL C.A., JELINSKI L.W.

1998 *J. Biomol.*, Vol. 12(2), 231-241. (E)

Nylons from nature. Synthetic analogs to spider silk.

Nylons naturels. Analogues synthétiques de la soie d'araignée.

O'BRIEN J.P. *et al.*

1998 *Adv. Mater.*, Vol. 10(15), 1185-1195. (E)

Silkworm silk as an engineering material.

La soie de ver à soie comme matériel technologique.

PANG A.S.D., GRINGORTEN J.L.

1998 *FEMS Microbiol. Lett.*, Vol. 167(2), 281-285. (E)

Regenerated silk fibroin - a review.

Fibroïne de soie régénérée - une revue.

RAJE S.S., REKHA V.D.

1998 *Man-Made Text.*, Vol. 41(6), 249-254. (E)

UV degradation of bivoltine silk fiber: a positron annihilation study.

Dégradation de la fibre de soie bivoltine par les UV : une étude de positron.

RAMGOPAL G. *et al.*

1998 *Eur. Polym.*, Vol. 34(10), 1423-1427. (E)

Silk fabrics dyed with plant-dyes and their antibacterial activities.

Tissus de soie teints avec des teintures végétales et leurs activités antibactériennes.

SAWA Y., SONODA T., HOTEN M.

1997 *Mukogawa Joshi Daigaku Kiyo, Shizen Kagaku-hen*, Vol. 45, 5-12.

Microstructural characterization of *Bombyx mori* silk fibers.

Caractérisation microstructurelle des fibres de soie de *Bombyx mori*.

SHEN Y., JOHNSON M.A., MARTIN D.C.

1998 *Macromolecules*, Vol. 31, 8857-8864. (E)

Development of novel anticoagulant materials from silk.

Développement d'un nouveau matériel anticoagulant à partir de soie.

TAMADA Y.

1998 *Zairyo Gijutsu*, Vol. 16(8), 317-320.

Modification of fibroin film with a chimera fibroin fragment for improvement of cell adhesion.
 Modification de films de fibroïne avec un fragment de fibroïne chimère pour l'amélioration de l'adhésion cellulaire.

TAMADA Y.

1998 *Mater. res. Soc. Symp. Proc.*, Vol. 530, 27-32. (E)

Structure and molecular conformation of tussah silk fibroin films treated with water-methanol solutions: dynamic mechanical and thermochemical behavior.

Structure et conformation moléculaire des films de fibroïne de soie tussah traités avec des solutions d'eau-méthanol : comportements thermochimique et mécanique.

TSUKADA M. *et al.*

1998 *J. Polym. Sci.*, Vol. 36, 2717-2724. (E)

Dyeing of silk fabrics in red-purple shade with fresh leaves of the japanese indigo plant.

Teinture des tissus de soie en rouge pourpre avec des feuilles fraîches de l'indigo japonais.

USHIDA S., TANIGAMI Y.

1998 *Nippon Kasei Gakkaishi*, Vol. 49(9), 1033-1036.

Photochemical behavior of natural silk. 3/ Photo fading of silk dyed with acid azo dyes.

Comportement photochimique de la soie naturelle. 3/ Perte des tons de soie avec les teintures à l'acide azoïque.

VASSILEVA V., BALTOVA S., HANDJIEVA S.

1998 *Polym. Degrad. Stab.*, Vol. 60(3), 367-373. (E)

Preliminary study on primary structure of dragline fibroin from spider *Araneus ventricosus*.

Etude préliminaire de la structure primaire de la fibroïne de la soie d'araignée *Araneus ventricosus*.

WANG Y., XIE J., LIANG S.

1997 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 29(5), 469-474.

Natural silk fibroin as a support for enzyme immobilization.

La fibroïne de soie comme support pour l'immobilisation d'enzymes.

ZHANG Y.

1998 *Biotechnol. Adv.*, Vol. 16(5/6), 961-971. (E)

Amperometric biosensor for uric acid based on uricase-immobilized silk fibroin membrane.

Biodétecteur ampérométrique pour l'acide urique basé sur la membrane de fibroïne de soie avec uricase immobilisée.

ZHANG Y. *et al.*

1998 *Anal. Chim. Acta.*, Vol. 369(1/2), 123-128. (E)

Characterization of uricase-immobilized silk fibroin membrane and its application to biosensor for uric acid.

Caractérisation de l'uricase immobilisée sur membrane de fibroïne de soie et ses applications comme biodétecteur pour l'acide urique.

ZHANG Y. *et al.*

1998 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Jinzhan*, vol. 25(3), 275-278.

Structure transformation of sericin protein dissolved from cocoon layer in hot water.

Transformation de la structure de la protéine de séricine dissoute à partir d'une veste de cocon dans l'eau chaude.

ZHU L., LAO J., LI Y.

1998 *Zhejiang Nongye Daxue Xuebao*, Vol. 24(3), 268-272.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux, soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante :

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les premières et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 × 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés à part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés à part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés à part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to: **Dr G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in Arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 × 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

* * *