

# sericologia

**Revue des Vers à Soie**

**Journal of Silkworms**

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

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

**B. MAUCHAMP**  
**G. CHAVANCY**  
**A. FOURNIER**

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

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

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

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

## SOMMAIRE – CONTENTS

## Articles scientifiques / Scientific papers

- Ultrastructural changes in the silk gland during secretory and post-secretory phases in the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* (D.) (Lepidoptera : Saturniidae) . . . 329**  
 Changements ultrastructuraux dans la glande séricigène pendant les phases sécrétrices et post-sécrétrices chez le ver à soie tasar tropical, *Antheraea mylitta* (D.) (Lepidoptera : Saturniidae) . . . . . 337

S. V. GHONMODE &amp; D. B. TEMBHARE

- Infection of *Antheraea mylitta* cytoplasmic polyhedrosis virus (AmCPV) in 5th instar and their effect on survival and commercial characters of tasar silkworm . . . 341**  
 Infestation d'*Antheraea mylitta* par le virus de la polyédrose cytoplasmique (AmCPV) au 5ème âge et son effet sur la survie et les caractères commerciaux du ver à soie tasar . . . 345

ALOK SAHAY, G. P. SINGH, D. K. ROY, D. N. SAHAY &amp; B. R. P. SINHA

- Studies on the relationship between silk yield, yield components and rearing environment of muga silkworm *Antheraea assama* Ww. . . . . 349**  
 Etudes sur la relation entre le rendement en soie, les composantes du rendement et l'environnement d'élevage du ver à soie muga *Antheraea assama* Ww. . . . . 355

MONICA CHAUDHURI

- Molecular phylogeny of genus *Morus* based on cpDNA trnL-trnF sequence data . . . 359**  
 Phylogénie moléculaire du genre *Morus* d'après les séquences de l'ADNcp trnL-trnF  
 ZHAO WEI-GUO, ZHANG ZHI-FANG & PAN YI-LE . . . . . 365

## Rapports techniques / Technical reports

- Studies on bivoltine cocoon cooking (Part I) : Effect of cocoon cooking (swelling) treatment and adjustment treatment on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell of Indian bivoltine hybrid cocoons . . . . . 369**  
 Etudes sur la cuisson de cocons bivoltins. Première partie : Effet du traitement de cuisson du cocon (gonflement) et du traitement d'ajustement sur le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau dans la coque soyeuse de cocons hybrides bivoltins indiens . . . . . 377

SUBHAS V. NAIK &amp; T. H. SOMASHEKAR

- Studies on bivoltine cocoon cooking (Part II) : Effect of cocoon cooking (swelling) treatment and adjustment treatment on reeling performance of Indian bivoltine hybrid cocoons . . . . . 381**  
 Etudes sur la cuisson de cocons bivoltins. Deuxième partie : Effet du traitement de cuisson du cocon (gonflement) et du traitement d'ajustement sur la performance de dévidage des cocons hybrides bivoltins indiens . . . . . 393

SUBHAS V. NAIK &amp; T. H. SOMASHEKAR

- Studies on bivoltine cocoon cooking (Part III) : Effect of cocoon cooking (swelling) treatment and adjustment treatment on quality characteristics of raw silk of Indian bivoltine hybrid cocoons . . . . . 399**  
 Etudes sur la cuisson de cocons bivoltins. Troisième partie : Effet du traitement de cuisson (gonflement) et du traitement d'ajustement sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège de cocons hybrides bivoltins indiens . . . . . 411

SUBHAS V. NAIK &amp; T. H. SOMASHEKAR

<b>Double phase planting, an effective technique for regenerating hard to root <i>Terminalia arjuna</i> (Bedd) and <i>Terminalia tomentosa</i> (W &amp; A), les deux principales plantes hôtes primaires du ver à soie tropical tasar, <i>Antheraea mylitta</i> D. . . . .</b>	<b>419</b>
Plantation en deux phases, une technique efficace de régénération de <i>Terminalia arjuna</i> (Bedd) et <i>Terminalia tomentosa</i> (W & A) les deux plantes hôtes du ver à soie tasar tropical <i>Antheraea mylitta</i> D. à racinement difficile . . . . .	427
P. S. SINHA, M. C. JOSHI, S. BECK, A. GANGOPADHYAY, A. K. SINHA & B. R. R. P. SINHA	

**Bibliographie / Bibliography . . . . . 431**

Sériciculture générale / General sericulture . . . . .	433
Mûrier / Mulberry . . . . .	437
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology . . . . .	443
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology . . . . .	449
Vers à soie : génétique / Silkworms : genetics . . . . .	451
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry . . . . .	457
Vers à soie : œufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology . . . . .	467
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms : silk glands . . . . .	469
Soie / Silk . . . . .	473

## ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE SILK GLAND DURING SECRETORY AND POST-SECRETORY PHASES IN THE TROPICAL TASAR SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* (D.) (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)

S.V. GHONMODE & D.B. TEMBHARE

Department of Zoology, Nagpur University Campus, Nagpur - 440010, India.

*The electron microscopic studies reveal the presence of greatly lobulated nuclei and well-equipped secretory apparatus consisting of rough endoplasmic reticulum, Golgi bodies and microtubular radial channels in the cells of medial and posterior regions of the silk gland (MSG and PSG respectively) during the secretory phase in *Antheraea mylitta*. The protein droplets are secreted continuously by the Golgi bodies which are intermingled with the microtubular radial channels. Prior to spinning, the formation of intracuticular spaces takes place through which the protein droplets are transported from the cells to the gland lumen.*

*With the onset of the regression phase, a large number of lysosomal bodies are evident in the cells of the MSG and PSG which first attack the cytoplasmic organelles and later on, the nuclei causing degeneration of the MSG and PSG during the prepupal period of metamorphosis.*

**Keywords:** *Antheraea mylitta*, silk gland, ultrastructure.

### INTRODUCTION

Ultrastructure of the silk gland in *Bombyx mori* and some temperate species of silkworms revealed distinctly the secretory characteristics of the epithelial cells in MSG and PSG consisting of polyploid and highly ramified nuclei, large number of nucleoli, rough endoplasmic reticulum, Golgi bodies and microtubular radial channels forming a well-equipped secretory apparatus for the synthesis of silk proteins, sericin and fibroin respectively (Prudhomme *et al.*, 1985; Sehna and Akai, 1990).

Although some histological (Barsagade and Tembhare, 2000) and ultrastructural (Akai *et al.*, 1993, 1994) observations were made on the silk gland in the tropical tasar silkworm, *A. mylitta*, further investigation is needed to elucidate thoroughly the subcellular mechanism of silk secretion and silk gland degeneration. The present ultrastructural studies were, therefore, undertaken to explore subcellular secretory and degenerative changes in the silk secretory cells of MSG and PSG.

### MATERIAL AND METHODS

During July 1997 to November 2000, about 20 to 30 fifth instar larvae of the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*, trivoltine Dabha race, were brought several times to the laboratory from the rearing center and acclimatized (Barsagade and Tembhare, 2000). The silk glands were dissected gently from the 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 day-old last instar larvae. The MSG and PSG were separated and fixed in the Karnovsky's Fixative. The ultra-thin sections were cut on the LKB's Reickert Ultracut-S-1 Ultramicrotome and observed under the JEOL, 1200 EX- II (Japan)

transmission electron microscope at desirable magnifications at the Regional Sophisticated Instrumentation Centre (RSIC), Nagpur University, Nagpur.

## OBSERVATIONS

The histological observations on the silk glands in *Antheraea mylitta* elucidated the MSG and PSG as the silk protein secretory regions. With the process of cocoon construction, the silk glands undergo regression and degeneration (Barsagade and Tembhare, 2000). The ultrastructural changes occurring in the silk secreting cells of MSG and PSG during the silk protein secretory and post-secretory phases are described below:

### Secretory Phase: (Figs. 1-4)

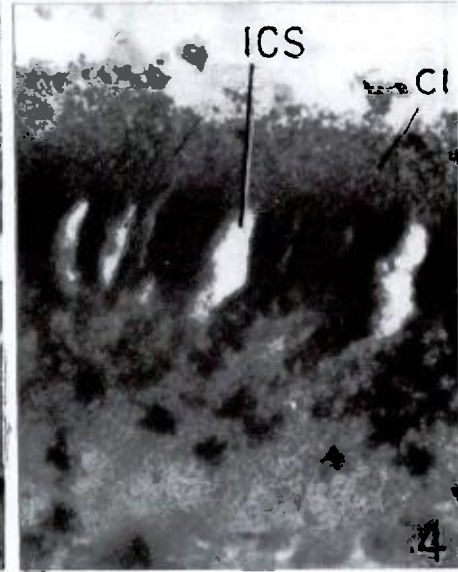
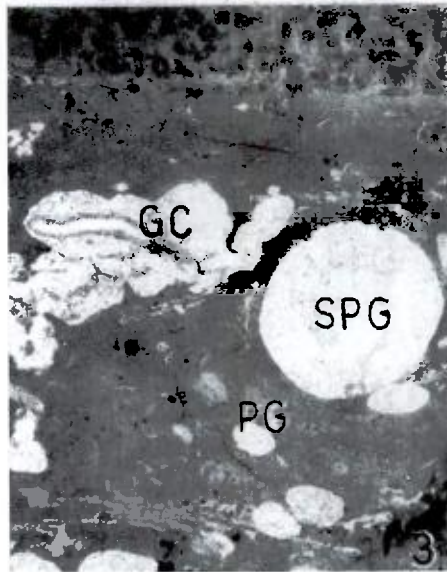
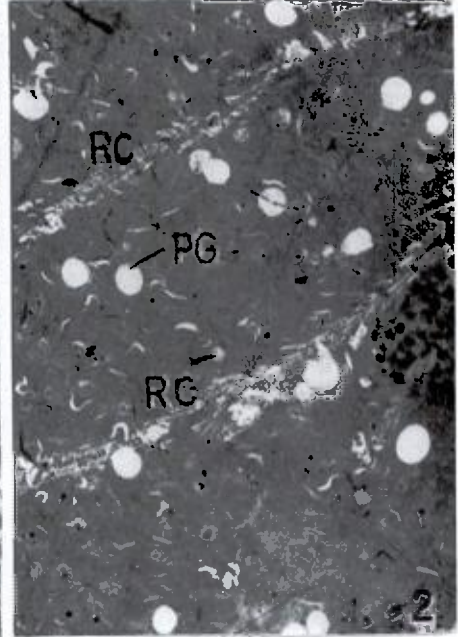
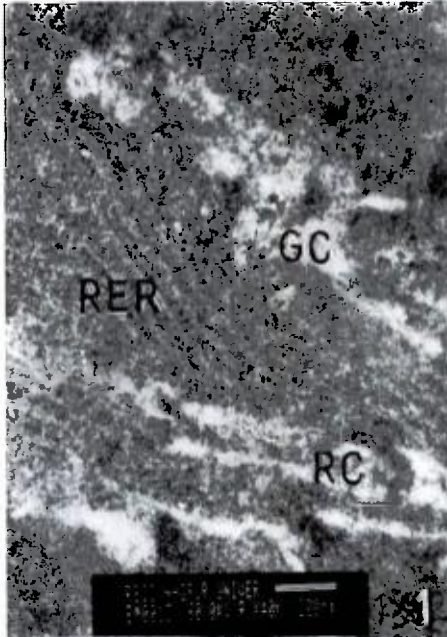
In the 6- to 15-day old larvae, the nuclei of the secretory cells of MSG and PSG are giant and spindle-shaped or lobulated respectively and are compactly filled with large chromatin bodies and some nucleoli. The entire cell body of the cells in both, the MSG and PSG is occupied with the rough endoplasmic reticulum (RER) forming a sort of carpet-like appearance. The radial channels are formed by the bundles of long microtubules which run from the membranous infoldings of apical basement membrane to the distal microfilament bundles adjacent to the microvilli of the cell wall. Large number of Golgi bodies are lying along the radial channels. In the cells of MSG and PSG, the Golgi bodies are numerous and large in size while the mitochondria are indistinct. The primary fine spherical protein droplets are discharged from the Golgi bodies which later on, fuse with each other forming the large secondary protein globules. The protein globules are larger in the cells of PSG than those in MSG. The well-defined spaces in the cuticular intima are formed in the 15-18 day old larvae. The transport of protein globules from cell membrane microvilli to the lumen of MSG and through spaces in cuticular intima to the lumen of the PSG is well-evident. In the 15 day-old last instar larvae, the lumen of MSG and PSG is filled with their own spherical and elongated protein droplets respectively.

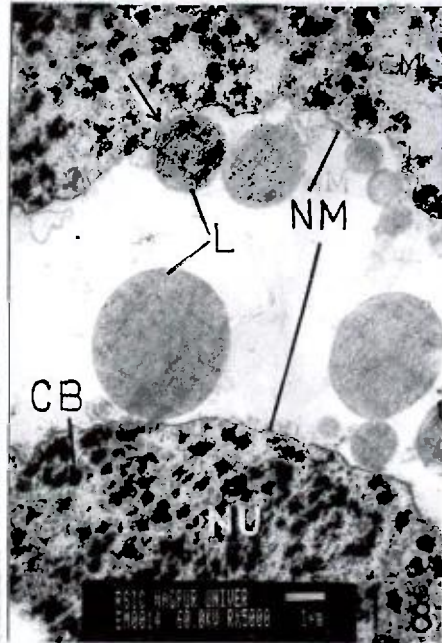
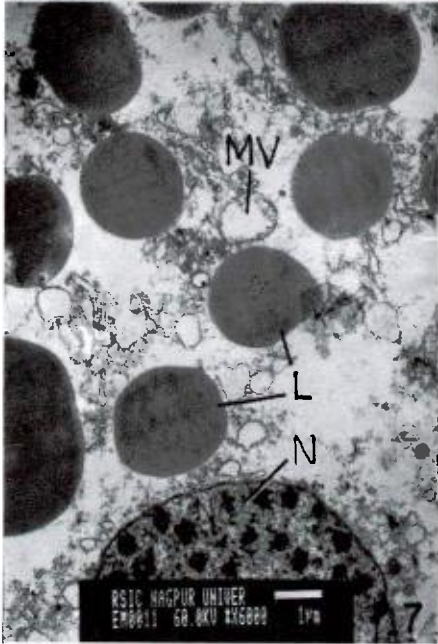
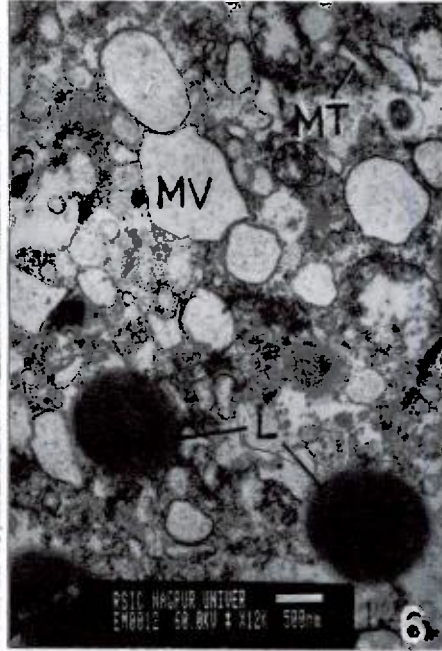
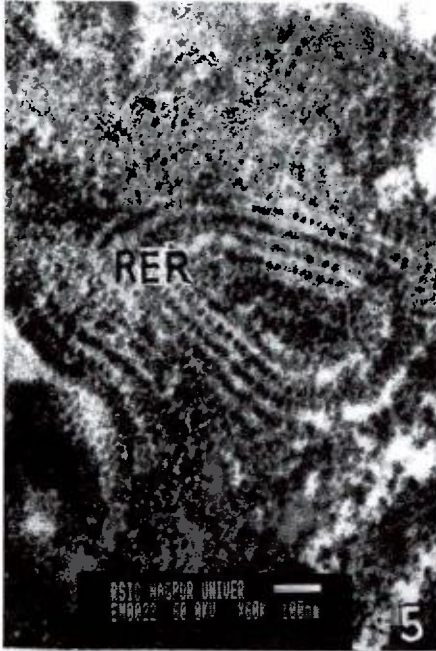
In the 18 to 21 day-old larvae, the protein globules are transported from the lumen of PSG to that of MSG and as a result, the PSG protein globules are often observed at the center while the MSG protein droplets at the periphery in the lumen of MSG. Both, MSG and PSG protein secretions are, subsequently transported to the ASG and finally to the spinneret. The vacuoles in the cells as well as in the lumen intermingled with the protein droplets are not seen in either MSG or PSG during the present study.

### Post-secretory Phase: (Figs 5-10)

At the onset of spinning, the 18 day-old last instar larva stops feeding and the large concentric whorls of RER are formed. The cells of MSG and PSG become devoid of secretory droplets. The lysosomes occur in large quantity in the cells of MSG and PSG. The lysosomes attack the cytoplasmic organelles including the microtubular radial channels. The cytoplasmic content is almost digested. Large phagosomes embodying variable size of vacuoles increase in number in the cells of MSG and PSG. The secretory apparatus is almost destroyed so that in the place of microtubular radial channels, Golgi bodies, RER and cytoplasmic content, the cells are packed with the lysosomal bodies, cytoplasmic filaments, membranous vesicles and tubules.







**Fig. 1.** TEM of PSG showing rough endoplasmic reticulum (RER), Golgi complex(GC) and radial channels (RC) at the onset of secretory phase in 6-day old larvae. × (scale).

*Fig. 1. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure montrant le réticulum endoplasmique rugueux (RER), le complexe golgien (GC) et les canaux radiaux (RC) au début de la phase sécrétrice chez les larves de 6 jours. × (échelle).*

**Fig. 2.** TEM of PSG showing radial channels (RC) secreting protein globules (PG) during secretory phase in 12-day old larvae. × 1800.

*Fig. 2. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure montrant les canaux radiaux (RC) sécrétant les globules de protéines (PG) pendant la phase sécrétrice chez des larves de 12 jours. × 1800.*

**Fig. 3.** TEM of PSG showing large GC and PG fusing with each other and forming large secondary protein globules (SPG) during secretory phase in 15-day old larvae. × 2500.

*Fig. 3. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant de grands complexe golgien et globules de protéines fusionnant ensemble et formant de grands globules de protéines secondaires (SPG) pendant la phase sécrétrice chez des larves de 15 jours. × 2500.*

**Fig. 4.** TEM of PSG showing formation of intracuticular spaces (ICS) in the internal cuticle intima (CI) in the 15-day old larvae. × 37500.

*Fig. 4. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant une formation d'espaces intracuticulaires (ICS) dans les intima cuticulaires internes (CI) chez des larves de 15 jours. × 37500.*

**Fig. 5.** TEM of PSG showing formation of concentric whorls of RER in 18 day old larvae. × (scale).

*Fig. 5. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure montrant la formation de volutes concentriques du réticulum endoplasmique rugueux chez des larves de 18 jours. × (échelle).*

**Fig. 6.** TEM of PSG showing lysosomes (L) causing destruction of cytoplasmic organelles and formation of membranous vesicles (MV) and tubules (MT) in 21-day old larvae. N – nucleus. × (scale).

*Fig. 6. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant des lysosomes (L) provoquant la destruction des organelles cytoplasmiques et la formation de vésicules (MV) et de tubes membranaires chez les larves de 21 jours. N – noyau. × (échelle).*

**Fig. 7.** TEM of PSG showing cells containing a large number of lysosomes (L), membranous vesicles (MV), scanty cytoplasm and nucleus (N). × (scale).

*Fig. 7. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant des cellules contenant un grand nombre de lysosomes (L), de vésicules membranaires (MV), et un cytoplasme et un noyau peu abondants (N). × (échelle).*

**Fig. 8.** TEM of PSG showing lysosomes (L) attacking nuclear membrane (NM) of the nuclei (arrow) after digesting cytoplasmic contents and cell wall in the 24-day old larvae. CB - chromatin bodies. × (scale).

*Fig. 8. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant les lysosomes (L) attaquant la membrane nucléaire (NM) des noyaux (flèche) après la digestion du contenu cytoplasmique et de la paroi cellulaire chez les larves de 24 jours. CB – corps chromatiniens. × (échelle).*



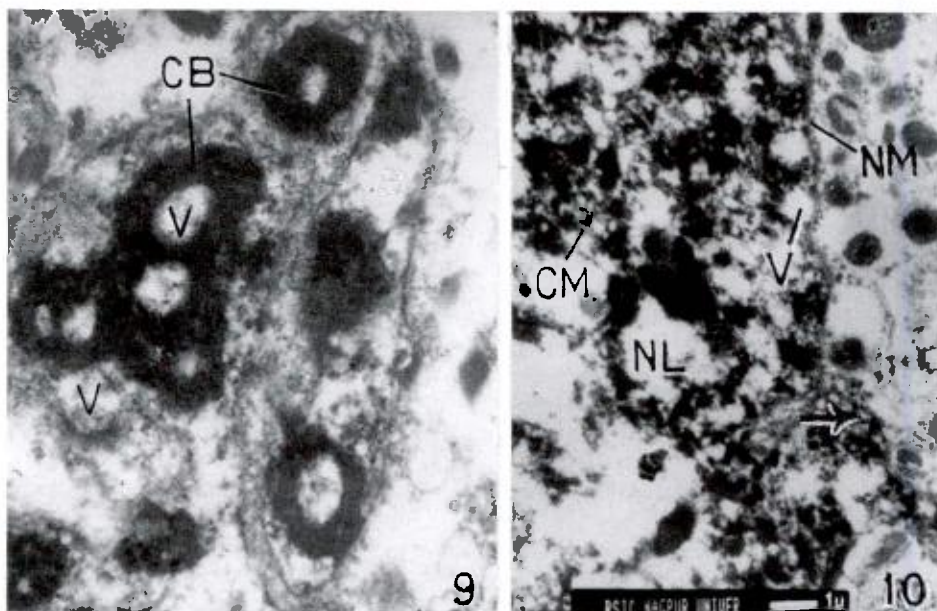


Fig. 9. TEM of PSG showing formation of vacuole (V) at the center of chromatin bodies (CB) in 24-day old larvae.  $\times 18750$ .

*Fig. 9. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant la formation de vacuoles (V) au centre des corps chromatiniens (CB) chez des larves de 24 jours.  $\times 18750$ .*

Fig. 10. TEM of PSG showing colloidal chromatin material (CM) due to destruction of chromatin bodies, breaking down of nucleolus (NL), vacuoles (V) in nucleoplasm and release of nuclear contents from nucleus into cell body after breaking down of nuclear membrane (arrow). X (scale).

*Fig. 10. Microscopie électronique à transmission de la glande séricigène postérieure présentant un matériau chromatiniens colloïdal (CM) dû à la destruction des corps chromatiniens, la rupture du nucléole (NL), les vacuoles (V) dans le nucléoplasme et la libération du contenu nucléaire dans le corps cellulaire après la rupture de la membrane nucléaire (flèche).  $\times$  (échelle).*

After digesting the cytoplasmic contents, the lysosomes attack the nuclei. They rupture first the nuclear membrane and thereafter destroy the chromatin material. The vacuolization and disintegration of chromatin bodies and nucleoplasm causing fragmentation of the nuclei and discharge of the amorphous nuclear material in the cell body of MSG and PSG cells is well-evident.

## DISCUSSION

In *B. mori* the silk producing secretory cells of MSG and PSG under electron microscope showed presence of extensively lobulated nuclei with numerous nucleoli, a bulk of chromatin bodies and cytoplasmic organelles consisting of RER, the Golgi bodies and microtubular radial channels (Sasaki

and Tashiro, 1976; Sasaki and Nakagari, 1980; Couble *et al.*, 1983; Couble *et al.*, 1984). The secretory globules are first released from the Golgi bodies of radial channels into the cytoplasm as the opaque elementary globules which adhere to each other and form the large globules and pass through the intracuticular spaces of the degenerated intima and accumulate in the gland lumen (Sasaki *et al.*, 1982). The accumulation of opaque spherical globules in the lumen of MSG and radially arranged filamentous globules in the lumen of PSG is well-evident even in the histological preparations in *Antheraea mylitta* (Barsagade and Tembhare, 2000) similar to that in other silkworms (Akai and Kataoka, 1978). Formation of intracuticular spaces in the degenerated cuticle- intima of MSG and PSG is noticed quite distinctly in *Antheraea mylitta* (Akai *et al.*, 1993).

In *A. mylitta*, ultrastructure of posterior region of the silk gland has been studied earlier (Akai *et al.*, 1993, 1994). These workers have reported numerous vacuoles within the silk liquid accumulated in the gland cavity and because of this reason in their opinion the silk filaments become porous rather than the compact one as found in *B. mori* (Akai, 2000). During the present study, however, vacuoles could not be recognized within the liquid secretion in the lumen of MSG or PSG.

In *B. mori* the middle region of the silk gland is known to be differentiated into three divisions- posterior, middle and anterior showing difference in ultrastructure, tinctorial properties and x-ray spectra of the sericin molecules they produce (Akai, 1984). The present study, moreover, does not show such differentiation of MSG into various divisions in *A. mylitta*. Couble *et al.*, (1987) noticed secretion of different sericin molecules by individual divisions of MSG in *B. mori* forming three layers- inner, middle and outer of sericin, around the central fibroin fibers. In *A. mylitta*, moreover, the central core of fibrous secretion transported from PSG is encircled by a thick homogenous layer of sericin secretion in the lumen of MSG and ASG. In *B. mori*, the MSG lumen serves as a silk reservoir (Prudhomme *et al.*, 1985), while in *A. mylitta* the silk secretion is stored independently in the lumen of MSG and PSG prior to spinning.

The *A. mylitta* silkworm stops feeding in order to initiate spinning the cocoon and the process of silk secretion is regressed. The electron microscopic observations showed that the RER, Golgi bodies and secretory globules reduce greatly and at the same time, myelin bodies, lysosomes, autophagic bodies, whorls of rough endoplasmic reticulum and vacuoles appear in the cytoplasm. The cytoplasmic organelles are rapidly digested by the lysosomes so that the entire cell body is filled with empty membranous vesicles and tubules. The lysosomes thereafter, attack the nuclear membrane and destroy chromatin bodies and nucleoli autophagically similar to that in *B. mori* (Sehnal and Akai, 1990). Matsuura *et al.*, (1976a,b) also reported sudden and rapid formation of lysosomes in MSG and PSG causing regression and degeneration in *B. mori*. The MSG and PSG degeneration mechanism in *A. mylitta*, however, resembles with that in *B. mori*. The lysosomes and the autophagic vacuoles are known to be heavily loaded with acid phosphatase (Matsuura *et al.*, 1976a,b). During the prepupal period, the secretory apparatus is destroyed completely by lysosomes, autophagic vacuoles and hunger spheres through cytolytic enzymes in *B. mori* (Matsuura *et al.*, 1976b). Both MSG and PSG are completely degenerated while ASG are reconstructed into imaginal labial glands which secrete the special enzyme, cocoonase that dissolves the labial opening of the cocoon so that, the adult silk moth could easily emerge out (Kafatos, 1972). The present study demonstrates the similar mechanism of degeneration of the silk gland in *A. mylitta* also.

## REFERENCES

- AKAI H. (1984) The ultrastructure and functions of the silk gland cells of *Bombyx mori*. In: Insect Ultrastructure, (R.C.King and H.Akai, Eds.). Vol. 2. Plenum, New York.
- AKAI, H. (2000) Cocoon filament characters and post cocoon technology. Int. J. Wild Silkworm & Silk. 5, 71-84.
- AKAI, H & KATAOKA, K. (1978) Fine structure of liquid fibroin in the posterior silk gland of *Bombyx* larvae. J. Sericult. Sci. Jpn. 47, 273-278.

- AKAI, H., NAGASHIMA, T. & AOYAGI, S. (1993). Ultrastructure of posterior silk gland cell and liquid silk in Indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta* (D). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 22(5), 497-506.
- AKAI, H., NAGASHIMA, S., AOYAGI, Y. & TERAUCHI, S. (1994) Structural and ultrastructural changes of liquid silk in silk gland of the Indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. *Int. J. Wild Silkworm & Silk.* 1, 15-21.
- BARSAGADE, D.D. & TEMBHARE, D.B. (2000) Development, structure and secretory activity of the silk gland complex in the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera: Saturniidae). *Sericologia.* 40(2), 231-245.
- COUBLE, P., GAREL, A. & PRUDHOMME, J. C. (1983) Developmental variations of non- fibroin mRNA of *Bombyx mori* silk gland, encoding for a low molecular weight silk protein. *Dev. Biol.*, 97, 398-407.
- COUBLE, P., BLAES, N. & PRUDHOMME, J.C. (1984) Actin microfilaments and fibroin secretion in the silk gland cells of *Bombyx mori*. Effects of cytochalasin B. *Exp. Cell Res.* 151, 322-331.
- COUBLE, P., MICHAILLE, J. J., COUBLE, M.L. & PRUDHOMME, J.C. (1987) Developmental switches of sericin mRNA splicing in individual cells of *Bombyx mori* silk gland. *Dev. Biol.* 124(2), 431-440.
- KAFATOS F.C. (1972) The cocoonase zymogen cells of silkworms :A model of terminal cell differentiation for specific protein synthesis. *Current Topics Dev. Biol.* 7, 125-191.
- MATSUURA, S., SHIMADZU, T. & TASHIRO, Y. (1976a) Lysosomes and related structures in the posterior silk gland cells of *Bombyx mori*. I. In late larval stadium. *Cell. Struct. Funct.* 1, 205-222.
- MATSUURA, S., SHIMADZU, T. & TASHIRO, Y. (1976b) Lysosomes and related structures in the posterior silk gland cells of *Bombyx mori*. II. In prepupal and early pupal stadium. *Cell Struct. Funct.* 1, 223-235.
- PRUDHOMME, J.C., COUBLE, P., GAREL, J.P. & DAILLIE, J. (1985) Silk Synthesis. *In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* (G.A. Kerkut and L.I. Gilbert Eds.), Vol.10. Pergamon Press, Oxford.
- SASAKI, S. & NAKAGARI, I. (1980) Secretory mechanism of fibroin, a silk protein in the posterior silk gland cells of *Bombyx mori*. *Membr. Biochem.* 3, 37-47.
- SASAKI, S. & TASHIRO, Y. (1976) Studies on the posterior silk gland of the silkworm, *Bombyx mori*. VI. Distribution of microtubules in posterior silk gland cells. *J. Cell. Biol.* 71, 565-574.
- SASAKI, S., NAKAJIMA, E., FUJI-KURIYAMA, Y. & TASHIRO, Y. (1982) Intracellular transport and secretion of fibroin in the posterior silk gland of *Bombyx mori*. *J. Cell. Sci.* 50, 19-44.
- SEHNAL, F. & AKAI, H. (1990) Insect silk glands: their types, development and function and effects of environmental factors and morphogenetic hormones on them. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 19, 79-132.

## CHANGEMENTS ULTRASTRUCTURAUX DANS LA GLANDE SERICIGENE PENDANT LES PHASES SECRETRICES ET POST-SECRETRICES CHEZ LE VER A SOIE TASAR TROPICAL *ANTHRAEA MYLITTA* (D.) (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

S. V. GHONMODE & D. B. TEMBHARE

Department of Zoology, Nagpur University Campus, Nagpur – 440010, Inde.

*Les études microscopiques électroniques révèlent la présence de noyaux très lobulés et d'un appareil sécréteur très important constitué d'un reticulum endoplasmique rugueux, de corps Golgiens et de canaux radiaux microtubulaires dans les cellules des zones médiane et postérieure de la glande séricigène (respectivement MSG et PSG) pendant la phase sécrétrice chez *Antheraea mylitta*. Les gouttelettes de protéines sont sécrétées de manière continue par les corps golgiens qui sont imbriqués avec les canaux radiaux microtubulaires. Avant le filage, il se produit une formation d'espaces intracuticulaires par lesquels les gouttelettes de protéines sont transportées des cellules dans la lumière de la glande.*

*Avec le début de la phase de régression, un grand nombre de corps lysosomaux sont visibles dans les cellules de la MSG et de la PSG qui attaquent d'abord les organites cytoplasmiques et puis ensuite les noyaux, ce qui entraîne la dégénérescence de la MSG et de la PSG pendant la période de métamorphose pré-nymphale.*

### INTRODUCTION

L'ultrastructure de la glande séricigène de *Bombyx mori* et de certaines espèces de vers à soie tempérées révèle distinctement les caractéristiques sécrétrices des cellules épithéliales de la MSG et de la PSG, qui consistent en des noyaux polyploïdes et très ramifiés, en un grand nombre de nucléoles, en un reticulum endoplasmique rugueux, en corps de Golgi et en canaux radiaux microtubulaires qui forment un appareil sécréteur très équipé pour la synthèse des protéines de soie de manière à sécréter respectivement la sérécine et la fibroïne (Prudhomme et coll., 1985 ; Sehnal et Akai, 1990).

Bien que certaines observations histologiques (Barsagade et Tembhare, 2000) et ultrastructurales (Akai et coll., 1993, 1994) aient été faites sur la glande séricigène chez le ver à soie tassar tropical, *A. mylitta*, il faudrait entreprendre des études supplémentaires pour tirer complètement au clair le mécanisme subcellulaire de sécrétion de la soie et de dégénérescence de la glande séricigène. Nous avons donc entrepris ces études ultrastructurales pour explorer les changements subcellulaires sécréteurs et dégénératifs dans les cellules sécrétrices de soie de la MSG et de la PSG.

### MATERIELS ET METHODES

De juillet 1997 à novembre 2000, on a obtenu en plusieurs fois au laboratoire environ 20 à 30 larves du cinquième âge du ver à soie tassar tropical, *Antheraea mylitta*, de la race trivoltine Dhaba en provenance du centre d'élevage pour les acclimater (Barsagade et Tembhare, 2000). Les glandes



séricigènes sont disséquées avec soin chez des larves de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 et 24 jours. Les MSG et PSG sont séparées et fixées dans du fixateur de Karnovsky. Les sections ultra fines sont coupées avec un Ultramicrotome LKB Reickeert Ultracut-S-1 et observées sous un microscope électronique à transmission JEOL, 1200 EX- II aux grossissements désirés au *Regional Sophisticated Instrumentation Centre (RSIC)*, de l'Université de Nagpur, à Nagpur.

## OBSERVATIONS

Les observations histologiques sur les glandes séricigènes chez *Antheraea mylitta* montrent que la MSG et la PSG sont les zones sécrétrices de la protéine de soie. Dans le processus de construction du cocon, les glandes séricigènes subissent une régénération et une dégénérescence (Barsagade et Tembhare, 2000). Les changements ultrastructuraux qui se produisent dans les cellules sécrétant la soie de la MSG et de la PSG pendant les phases sécrétrices et pendant les phases post-sécrétrices sont décrits ci-dessous.

### Phase sécrétrice (Figs 1-4) :

Chez les larves de 6 à 15 jours, les noyaux des cellules sécrétrices de la MSG et de la PSG sont respectivement géants, en forme de fuseau ou lobulés et sont densément remplis de grands corps chromatiques et de certains nucléoles. Le corps cellulaire entier des cellules à la fois dans la MSG et la PSG est occupé par le reticulum endoplasmique rugueux (RER) qui a l'apparence d'une moquette. Les canaux radiaux sont formés par des paquets de longs microtubules qui s'étendent des enveloppes membranaires de la membrane basale du sommet jusqu'aux microfilaments distaux proches des microvilli de la paroi cellulaire. Un grand nombre de corps golgiens est dispersé le long des canaux radiaux. Dans les cellules de la MSG et de la PSG, les corps golgiens sont nombreux et de grande taille tandis que les mitochondries sont indistinctes. Les gouttelettes de protéines sphériques primaires fines sont déchargées par les corps golgiens puis fusionnent et forment de grands globules secondaires de protéines. Les globules de protéines sont plus grands dans les cellules de la PSG que dans celles de la MSG. Des espaces bien définis dans les intima cuticulaires se forment chez les larves de 15 à 18 jours. Le transport des globules de protéines des microvilli de la membrane cellulaire jusqu'à la lumière de la MSG et par les espaces dans les intima cuticulaires jusqu'à la lumière de la PSG est très évident. Chez les larves de 15 jours du dernier âge, la lumière de la MSG et de la PSG est remplie respectivement par leurs propres gouttelettes de protéines sphériques et allongées.

Chez les larves de 18 à 21 jours, les globules de protéines sont transportés de la lumière de la PSG jusqu'à celle de la MSG et par conséquent, on observe souvent les globules de protéines de la PSG au centre tandis que les gouttelettes de protéines de la MSG se situent à la périphérie de la lumière de la MSG. Les sécrétions de protéines de la MSG et de la PSG sont, par la suite transportées jusqu'à l'ASG (glande séricigène antérieure) et finalement jusqu'à la filière. Dans cette étude, les vacuoles dans les cellules et dans la lumière mélangées avec les gouttelettes de protéines ne se voient ni dans la MSG ni dans la PSG.

### Phase post-sécrétrice (Figs 5-10) :

Au début du filage, la larve du dernier âge de 18 jours arrête de se nourrir et il se forme de grands tourbillons concentriques de RER. Les cellules de la MSG et de la PSG deviennent exempts de gouttelettes sécrétrices. Il se produit une grande quantité de lysosomes dans les cellules de la MSG et de la PSG. Les lysosomes attaquent les organelles cytoplasmiques y compris les canaux radiaux microtubulaires. Le contenu cytoplasmique est presque digéré. De grands phagosomes qui comprennent des vacuoles de taille variable augmentent en nombre dans les cellules de la MSG et de la PSG. L'appareil sécréteur est presque détruit si bien qu'à la place des canaux radiaux microtubulaires, des corps golgiens, du contenu RER et cytoplasmique, les cellules sont comblées avec les corps lysosomaux, les filaments cytoplasmiques, les vésicules et les tubules membranaires.

Après avoir digéré le contenu cytoplasmique, les lysosomes attaquent les noyaux. Ils rompent d'abord la membrane nucléaire puis ils détruisent le matériel chromatinien. La vacuolisation et la désintégration des corps chromatiniens et du nucléoplasme qui entraînent la fragmentation des noyaux et la décharge de matériel nucléaire amorphe dans le corps cellulaire des cellules de la MSG et de la PSG sont bien évidentes.

## DISCUSSION

Chez *B. mori*, l'observation des cellules sécrétrices productrices de soie de la MSG et de la PSG sous un microscope électronique montre la présence de noyaux très lobulés avec de nombreux nucléoles, un ensemble de corps chromatiniens et d'organelles cytoplasmiques constituées de RER, de corps golgiens et de canaux radiaux microtubulaires (Sasaki, et Tashiro, 1976 ; Sasaki et Nakagari, 1980 ; Couble et coll., 1983 ; Couble et coll., 1984). Les globules sécréteurs sont d'abord libérés par les corps golgiens des canaux radiaux dans le cytoplasme en tant que globules opaques élémentaires qui adhèrent l'un à l'autre et forment de grands globules et passent par les espaces intracuticulaires des intima dégénérées et s'accumulent dans la lumière de la glande (Sasaki et coll., 1982). L'accumulation de globules sphériques opaques dans la lumière de la MSG et de globules filamenteux disposés en étoile dans la lumière de la PSG est bien évidente dans les préparations histologiques chez *Antheraea mylitta* (Barsagade et Tembhare, 2000) comme chez d'autres vers à soie (Akai et Kataoka, 1978). On remarque distinctement la formation d'espaces intracuticulaires dans les intima cuticulaires dégénérées de la MSG et de la PSG chez *Antheraea mylitta* (Akai et coll., 1993).

On a déjà étudié chez *A. mylitta* l'ultrastructure de la zone postérieure de la glande séricigène (Akai et coll., 1993, 1994). Ces chercheurs ont rapporté des vacuoles nombreuses à l'intérieur du liquide soyeux accumulé dans la lumière de la glande et selon eux en raison de cela les filaments de soie deviennent poreux et non compacts comme chez *B. mori* (Akai, 2000). Cependant, dans cette étude, on ne peut pas reconnaître les vacuoles dans la sécrétion liquide de la lumière de la MSG ou de la PSG.

Chez *B. mori*, on sait que la zone médiane de la glande séricigène est différenciée en trois divisions : postérieure, médiane et antérieure, ce qui donne une différence d'ultrastructure, des propriétés tinctoriales et du spectre aux rayons-x des molécules de sérécine qu'elles produisent (Akai, 1984). Par contre, cette étude, ne montre pas une telle différenciation de la MSG en divisions variées chez *A. mylitta*. Couble et coll., (1987) ont remarqué la sécrétion de différentes molécules de sérécine par différentes parties de la MSG chez *B. mori*, qui forment trois couches, interne, médiane et externe de sérécine autour des fibres de fibroïne centrales. Par ailleurs, chez *A. mylitta*, le cœur central de la sécrétion fibreuse transportée à partir de la PSG est entouré par une couche homogène épaisse de sécrétion de sérécine dans la lumière de la MSG et de l'ASG. Chez *B. mori*, la lumière de la MSG sert de réservoir à soie (Prudhomme et coll., 1985) tandis que chez *A. mylitta*, la sécrétion de soie est stockée indépendamment dans la lumière de la MSG et de la PSG avant le filage.

Le ver à soie *A. mylitta* arrête de se nourrir pour commencer à filer le cocon et il se produit une régression du processus de sécrétion de soie. Les observations au microscope électronique montrent que le RER, les corps golgiens et les globules sécréteurs diminuent beaucoup et au même moment, les corps myéliniques, les lysosomes, les corps autophagiques, les tourbillons de reticulum endoplasmique rugueux et les vacuoles apparaissent dans le cytoplasme. Les organites cytoplasmiques sont rapidement digérés par les lysosomes de sorte que tout le corps cellulaire est rempli de vésicules et de tubules membranaires. Puis les lysosomes attaquent la membrane nucléaire et détruisent les corps chromatiniens et les nucléoles de manière autophagique comme chez *B. mori* (Sehna et Akai, 1990). Matsuura et coll., (1967a, b) ont aussi rapporté une formation rapide et soudaine de lysosomes dans la MSG et la PSG qui entraîne la régression et la dégénérescence chez *B. mori*. Le mécanisme de dégénérescence de la MSG et de la PSG chez *A. mylitta* ressemble à celui de *B. mori*. On sait que les lysosomes et les vacuoles autophagiques sont lourdement chargés en

phosphatase acide (Matsuura et coll., 1967a, b). Pendant la période pré-nymphale chez *B. mori*, l'appareil sécréteur est complètement détruit par les lysosomes et les vacuoles autophagiques et les sphères digestives par les enzymes cytolytiques (Matsuura et coll., 1976b). La MSG et la PSG dégèrent complètement tandis que l'ASG se reconstruit en glandes labiales imaginaires qui sécrètent l'enzyme spéciale, la cocoonase qui dissout l'ouverture du cocon de sorte que le papillon adulte peut facilement émerger (Kafatos, 1972). Notre étude montre un mécanisme similaire de dégénérescence de la glande séricigène chez *A. mylitta*.

## INFECTION OF *ANTHRAEA MYLITTA* CYTOPLASMIC POLYHEDROSIS VIRUS (AmCPV) IN 5<sup>TH</sup> INSTAR AND THEIR EFFECT ON SURVIVAL AND COMMERCIAL CHARACTERS OF TASAR SILKWORM

ALOK SAHAY, G. P. SINGH, D. K. ROY, D. N. SAHAY & B. R. R. P. SINHA

Silkworm Pathology Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi – 835 303, India.

*Infection of CPV on different days of 5<sup>th</sup> instar tasar silkworm larvae, *Antheraea mylitta* D. affects the growth and development effectively. From a series of experimental infectivity tests up to seven days of V instar larvae, it was observed that first, second and third day infection registered impact on survivability more adversely and reduced the larval weight, cocoon weight, shell weight, pupal weight and moth emergence percentage at maturity. Earlier was the infection during the 5<sup>th</sup> instar, greater was the reduction in the above economic traits.*

**Keywords:** *Antheraea mylitta*, virosis, survival.

### INTRODUCTION

Tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury is reared in outdoor condition and suffers heavy loss due to pest and diseases. Among diseases, virosis, bacteriosis and microsporidiosis are the major diseases. Virosis caused by cytoplasmic polyhedrosis virus (AmCPV) alone causes more than 20% loss in cocoon crop. The severe infection of AmCPV may cause failure of entire crop. Diseased worms show retarded growth, irregular moulting, vomiting tendency, flaccidity and ultimately they die by hanging head downwards during rearing. Some chemicals and formulations i. e. sodium hypochlorite, tasar keet ousadh, iodophore have been used to control the virosis in tasar silkworm (Thangavelu *et al.*, 1995). Thorough surface disinfection of *Bombyx mori* eggs with 2.5% formaline suppresses CPV (Mangum *et al.*, 1972). Asiphor 1-2% is also known to be effective against polyhedrosis in *Bombyx mori* (Reddy *et al.*, 1990). Some prophylactic agents have been reported to combat polyhedrosis in mulberry silkworm, *B. mori* (Nomani and Mukherjee, 1975; Patil, 1991) and in tasar silkworm (Kumar and Griyaghey, 1995). Calcium hydroxide decreases the incidence of CPV when fed orally (Argua *et al.*, 1963).

The susceptibility of silkworm to CPV infection is high at the early stage, much lower at the middle stage and then increases up to the moult in *Bombyx mori* (Kobra *et al.*, 1967). Such information in *Antheraea mylitta* is wanting, hence, this experiment was conducted to determine the effect of AmCPV infection in late age larvae for observing survivability and commercial characters.

### MATERIALS AND METHODS

#### ***Antheraea mylitta* cytoplasmic polyhedrosis virus (AmCPV) inoculum:**

Fresh AmCPV inoculum was prepared from diseased silkworm following the method of Hayashi and Bird (1970) with some modification. Completely whitened mid gut of polyhedrosised silkworm



(30 g) were homogenised at 5° C in 500 ml of TE buffer (10 mmol/l Tris – HCl, 1 mmol/l – EDTA, pH 8.0). After removing the debris by filtration through 110 µm macrofilter, the polyhedral bodies were pelleted by centrifugation at 10,000 × g for 10 minutes. The pellet was thoroughly washed, resuspended in 15 ml of TE buffer and purified further by centrifugation through 55-75% sucrose (in 20 mmol/l, phosphate buffer pH 7.2) density gradient at 30,000 × g for 90 minutes. The bands containing polyhedral bodies were pooled, washed several times with TE buffer and stored at –5° C.

#### Inoculation of AmCPV and rearing of larvae:

Required quantity of AmCPV suspension was made by polyhedra count ( $1 \times 10^5$  polyhedra/ml) using “Neubaure” haemocytometer out of that 2.0 ml suspension was used for inoculation of 50 larvae. Virus suspension containing  $1 \times 10^5$  polyhedra/ml was smeared evenly on sterilized (70% ethyl alcohol) fresh leaves of *Terminalia arjuna* with a flat tipped glass rod, allowed to air dry and fed to 1 to 7 days old 5<sup>th</sup> instar larvae of Daba eco-race. The feeding of AmCPV treated leaves to the larvae was given separately once in the morning in controlled indoor condition (at 24° C ± 1° C and 70 ± 5% relative humidity). The subsequent feeds were with untreated fresh arjuna leaves. Feeding of Arjuna leaves treated with sterilized distilled water served as control. For each treatment including control six replications each with 50 larvae were maintained. Observations were made on larval growth, survivability and cocoon character and data were analysed by adopting completely Randomized Design (Sundaraj *et al.*, 1972).

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of survivability presented in figure 1 indicate that the survival of larvae, pupae and adults was better when the infection by AmCPV took place late in fifth instar. The survival percentage of larvae, pupae and adults was less than 10% when the larvae were inoculated orally on 1<sup>st</sup> day of 5<sup>th</sup> instar, whereas it was more than 20% in the larvae inoculated on 7<sup>th</sup> day of 5<sup>th</sup> instar. Earlier the silkworms were inoculated during the 5<sup>th</sup> instar, the greater was the body weight reduction at maturity. The average weight was 24.4 g in the larvae infected orally with AmCPV on 1<sup>st</sup> day of 5<sup>th</sup> instar and it was higher 34.6 g in 7<sup>th</sup> day inoculated larvae. Maximum larval weight of 38.8 g was recorded in control (Fig. 1). As the infection of AmCPV was later in 5<sup>th</sup> instar the pupae formed were comparatively healthier as higher pupal weight (11.25g) was recorded in 7<sup>th</sup> day inoculated larvae. Similarly single cocoon weight, shell weight and silk percent varied from 8.45 to 11.25 g, 0.74 to 1.36 g and 8.75 to 12.08% respectively in the larvae inoculated with AmCPV from 1<sup>st</sup> to 7<sup>th</sup> day of 5<sup>th</sup> instar larvae. In control the cocoon weight, shell weight, silk percent recorded were comparatively higher 11.75g, 1.51 g and 12.85% respectively (Fig. 2). The survival of adults emerged from the larvae inoculated with AmCPV in 5<sup>th</sup> instar (1<sup>st</sup> to 7<sup>th</sup> days) was 4.50, 7.00, 11.50, 15.25, 19.50, 20.25 and 22.50% respectively against 45% in control (Fig. 1).

The severity of cytoplasmic polyhedrosis is influenced by several factors such as the pathogen susceptibility of silkworms, nutrition, environmental components etc. It may be inferred that cytoplasmic polyhedrosis virus infection from 1 to 3<sup>rd</sup> days of V instar silkworm larvae results in greater reduction in survival of larva, pupa and adult besides affecting cocooning, pupation, larval weight, cocoon weight, shell weight and silk ratio.

The silkworms which were given the inoculation on the first and second day of the V instar started showing the symptoms of virosis after sixth day. However, the ET<sub>50</sub> for larval mortality was 9.12 days in case of silkworms inoculated on the first day.

After 24 hours of inoculation polyhedra frequently begin to appear and in 48 hours they reach in most of the cells (Trager, 1935). The fat tissues of infected silkworms, a nucleus show tetrahedral shape in the place of the normal rhombododechedra (Bergold, 1943). As a result of that CPV inoculated in final stage of *Antheraea mylitta*, larvae begin to appear yellow from 4<sup>th</sup> to 7<sup>th</sup> days and start dying between 9<sup>th</sup> to 10<sup>th</sup> days hence, the consequences of the infection on the economical

characters was more emphasised in the 1<sup>st</sup> day to 3<sup>rd</sup> day inoculated larvae in comparison to 7<sup>th</sup> day inoculated larvae.

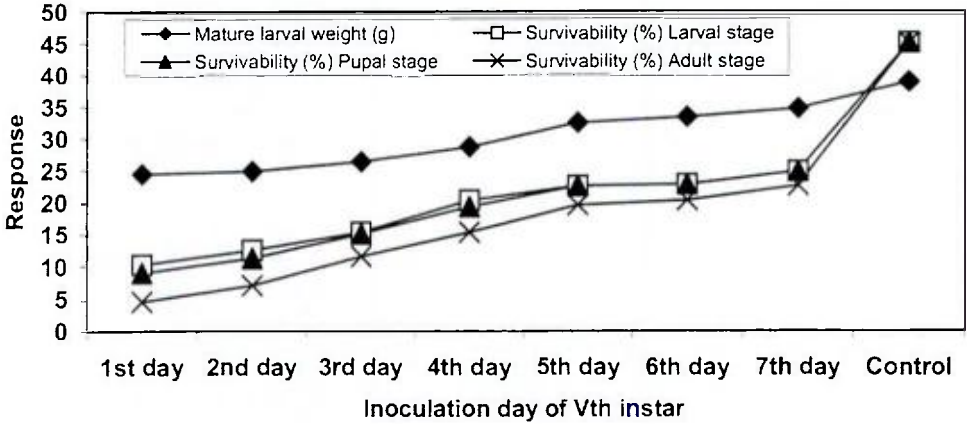


Fig. 1. Influence of AmCPV on larval growth and survivability of *Antheraea mylitta*.

Fig. 1. Influence de l'AmCPV sur la croissance larvaire et la survie d'*Antheraea mylitta*.

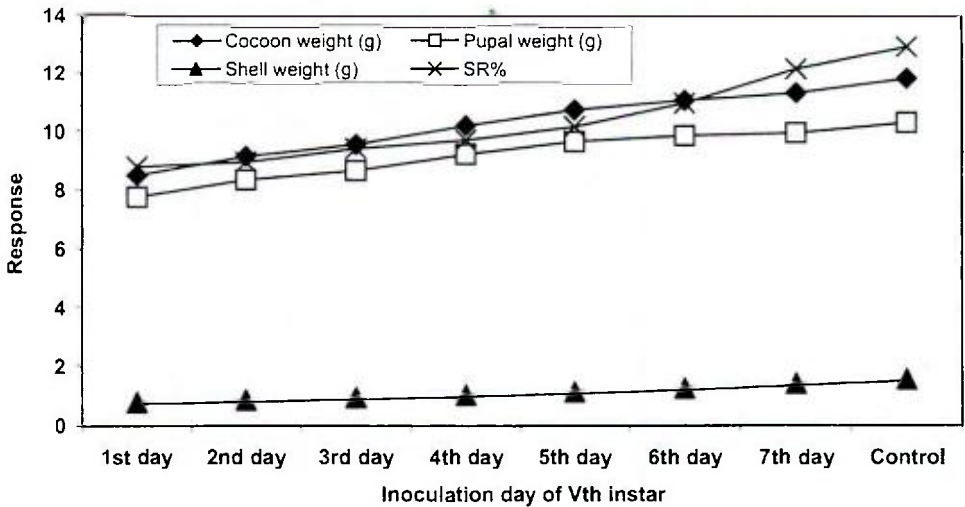


Fig. 2. Effect of AmCPV on the commercial parameters of *Antheraea mylitta*.

Fig. 2. Effet de l'AmCPV sur les paramètres commerciaux d'*Antheraea mylitta*.

The observations on reduction of mature larvae weight with AmCPV infection on different days in 5<sup>th</sup> instar in the present study are in accordance with those of Philip & Jacob (1981) who observed a reduction in the larval weight of *Pericallia ricini* infected with granulosis virus. In the present experiment, the loss in single cocoon weight in AmCPV infected larvae matches with the findings of Hadimani (1980) who reported reduced cocoon weight due to Kenchu virus infection in silkworm, *Bombyx mori*.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Mr Suresh Rai, Assistant Director (Statistics), Statistics Section, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi for statistical analysis of scientific data. The assistance of supporting staff of silkworm pathology section during rearing is also acknowledged.

### REFERENCES

- ARUGA H., FUKUDA H. & YOSHITAKE N. (1963) Observations on a polyhedrosis virus within the nucleus of the silk gland cells of the silkworm, *Bombyx mori* L., J. Seric. Sci. Jpn., 32, 213-218.
- BERGOLD G. H. (1943) Uber Polyederkrankheiten bei Insekten. Bio. Zentr. 63, 1-55.
- HADIMANI A. K. (1980) Studies on the nature of Kenchu disease of silkworm *Bombyx mori* Linnaeus in Karnataka, M. sc. (Agric.) Thesis, Univ. Agric. Science, Bangalore, p. 91.
- HAYASHI Y. & BIRD F. T. (1970) The isolation of cytoplasmic polyhedrosis virus from the white-marked tussock moth, *Orgyia leucostigma* Smith) Can. J. Microbiol. 6, 695-701.
- KOBRA R., ARUGA H. & WATANABE H. (1967) In: Principles of Silkworm Pathology, written (Eds: R. Govindan, T. K. Narayanaswamy & M. C. Devaiah), Seri Scientific Publishers, Bangalore, 115.
- KUMAR P. & GRIYAGUE U. P. (1995) Studies on the efficacy of Sodium hydroxide as a prophylactic agent against polyhedrosis in tasar silkworm, *A. mylitta* D. Entomon., 20, 53-54.
- MANGUM C. E., JAMES P. E. & ANDERSON H. V. (1972) A device for treating Pink Bollworm eggs for suppression of cytoplasmic polyhedrosis virus infection. J. Econ. Ent. 65, 289-291.
- NOAMANI K. R. & MUKHERJEE P. K. (1975) Preliminary investigation on efficacy of Papazol against viral disease of silkworm *B. mori* L. Indian J. Seric. 16, 35-38.
- PATIL C. S. (1991) Studies on the evolution of calcium hydroxide against CPV of *B. mori* L. Entomon. 16, 147-150
- PHILIP B. M. & JACOB A. (1981) Further studies on influence of granulosis infection on the larvae of *Pericallia ricini* Fab. (Arctiidae : Lep). Entomon p 11-113.
- REDDY S. V., SINGH B. D., BAIG M., SENGUPTA K., GIRIDHARA K., SASIDHARAN T. O. & JOLLY M. S. (1990) Efficacy of Asiphor as a disinfectant against incidence of disease of silkworm. Indian J. Seric, 27, 113-116.
- SUNDARAJN., NAGARAJU S., VENKATARAMU M. N. & JAGANNATHA M. K. (1972) Design and analysis of field experiments. Univ. of Agricultural Science, Bangalore p. 419.
- THANGAVELU K., BANSAL A. K., SHUKLA R. M., SAXENA N. N., JAYASWAL J. & GOEL A. K. (1995) Evaluation of some chemicals for prevention of diseases in tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera: Saturniidae). Indian J. Seric., 34, (2), 142-144.
- TRAGER W. (1935) Cultivation of the virus of grasserie in silkworm tissue culture. J. Exptl. Med. 61, 501-513.

# INFESTATION D'*ANTHRAEA MYLITTA* PAR LE VIRUS DE LA POLYÉDROSE CYTOPLASMIQUE (AmCPV) AU 5<sup>ÈME</sup> ÂGE ET SON EFFET SUR LA SURVIE ET LES CARACTÈRES COMMERCIAUX DU VER À SOIE TASAR

ALOK SAHAY, G. P. SINGH, D. K. ROY, D. N. SAHAY & B. R. R. P. SINHA

Silkworm Pathology Laboratory, Central Tassar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi – 835 303, Inde.

*L'infestation des larves du ver à soie tassar *Antheraea mylitta* D. par le CPV à différents jours du 5<sup>ème</sup> âge a réellement un effet sur leur croissance et leur développement. D'après une série de tests d'infectiosité expérimentale, nous avons observé que lorsque l'infestation a lieu le premier, le deuxième et le troisième jour du 5<sup>ème</sup> âge, elle a un impact plus négatif sur la survie et elle fait baisser le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le poids nymphal et le pourcentage d'émergence des papillons. Plus l'infestation a lieu tôt pendant le 5<sup>ème</sup> âge, plus la diminution des traits économiques ci-dessus est importante.*

## INTRODUCTION

Le ver à soie tassar, *Antheraea mylitta* Drury est élevé à l'extérieur et est victime de lourdes pertes en raison des parasites et des maladies. Les principales maladies sont les viroses, les bactérioses et les microsporidioses. La seule virose provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire (AmCPV) entraîne une perte de récoltes en cocons de plus de 20 %. Une infestation sévère par l'AmCPV peut entraîner un échec total. La croissance des vers à soie malades est retardée, leur mue irrégulière, et ils présentent une tendance aux vomissements et à la flacidité et finalement ils meurent la tête en bas pendant l'élevage. Certains produits chimiques et formulations comme l'hypochlorure de sodium, le *keet ousadh* tassar, l'iodophore sont utilisés pour lutter contre la virose du ver à soie tassar (Thangavelu et coll., 1995). La désinfection complète de la surface des œufs de *Bombyx mori* avec de la formaldéhyde à 2,5 % supprime le CPV (Mangum et coll., 1972). On sait aussi que l'asiphore à 1-2 % est efficace contre la polyédrose chez *Bombyx mori* (Reddy et coll., 1990). On a rapporté que certains agents prophylactiques combattent la polyédrose du ver à soie du mûrier, *B. mori* (Nomani et Mukherjee, 1975 ; Patil, 1991) et du ver à soie tassar (Kumar et Griyaghey, 1995). Quand il est absorbé oralement, l'hydroxyde de calcium diminue l'incidence du CPV (Argua et coll., 1963).

Chez *Bombyx mori*, la sensibilité du ver à soie à l'infestation par le CPV est élevée au stade précoce, beaucoup plus faible au milieu du stade et elle augmente jusqu'à la mue (Kobra et coll., 1967). On ne dispose pas de ces informations chez *Antheraea mylitta*, d'où cette expérience qui a été entreprise pour déterminer l'effet de l'infestation par AmCPV sur les larves du dernier âge et pour observer leur survie et leurs caractères commerciaux.

## MATERIELS ET METHODES

**Inoculum du virus de la polyédrose cytoplasmique (AmCPV) chez *Antheraea mylitta* :**



On prépare un inoculum frais d'AmCPV à partir de vers à soie malades en suivant la méthode d'Hayashi et Bird (1970) avec certaines modifications. L'intestin moyen complètement blanchi de vers à soie polyédrosés (30 g) est homogénéisé à 5° C dans 500 ml de tampon TE (10 mmol/l Tris – HCl, 1 mmol/l – EDTA, au pH de 8,0). Après avoir enlevé les débris par filtration à travers un macrofiltre de 100 µm, les corps polyédraux sont culottés par centrifugation à 10 000 × g pendant 10 minutes. On lave soigneusement le culot, on le resuspend dans 15 ml de tampon TE et on le purifie à nouveau par centrifugation sur un gradient saccharose de 55 à 75 % (dans 20 mmol/l, tampon de phosphate au pH de 7,2) à 30.000 × g pendant 90 minutes. Les couches contenant les corps polyédraux sont regroupées, lavées plusieurs fois dans un tampon TE et stockées à – 5° C.

#### Inoculation de l'AmCPV et élevage des larves :

On fabrique la quantité nécessaire de suspension AmCPV en dénombrant les polyédres ( $1 \times 10^5$  polyédres /ml) avec un hémocytomètre " Neubauer " et on utilise 2 ml de suspension pour l'inoculation de 50 larves. La suspension de virus contenant  $1 \times 10^5$  polyédres / ml est étalée régulièrement sur des feuilles fraîches stérilisées (alcool éthylique à 70 %) de *Terminalia arjuna* avec un bâtonnet en verre à l'extrémité plate, puis on la laisse sécher à l'air et on nourrit des larves du 5<sup>ème</sup> âge de 1 à 7 jours de l'ecorace Daba. Les larves sont nourries avec des feuilles traitées avec de l'AmCPV séparément une fois le matin dans des conditions contrôlées à l'intérieur (à 24° C ± 1° C et 70 ± 5 % d'humidité relative). Les nourrissages suivants ont lieu avec des feuilles fraîches d'Arjuna non traitées. Le nourrissage avec des feuilles d'Arjuna traitées avec de l'eau distillée stérilisée sert de témoin. Pour chaque traitement, y compris pour le témoin, on maintient six répétitions de 50 larves chacune. On procède aux observations sur la croissance larvaire, la survie, les caractères du cocon et les données sont analysées en adoptant une conception complètement aléatoire (Sundaraj et coll., 1972).

### RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats concernant la survie, présentés dans la figure 1, indiquent que la survie des larves, des nymphes et des adultes est meilleure quand l'infestation par l'AmCPV se produit à la fin du cinquième âge. Le pourcentage de survie des larves, des nymphes et des adultes est inférieur à 10 % quand les larves sont inoculées par voie orale le 1<sup>er</sup> jour du 5<sup>ème</sup> âge tandis qu'il est supérieur à 20 % quand les larves sont infestées oralement le 7<sup>ème</sup> jour du 5<sup>ème</sup> âge. Plus les vers à soie sont inoculés tôt pendant le 5<sup>ème</sup> âge, plus le poids corporel baisse à la maturité. Le poids moyen est de 24,4 g chez les larves infestées de manière orale par l'AmCPV le 1<sup>er</sup> jour du 5<sup>ème</sup> âge et il est plus élevé (34,6 g) chez les larves inoculées le 7<sup>ème</sup> jour. On enregistre le poids larvaire maximum de 38,8 g chez le témoin (Fig. 1). Quand l'infestation par l'AmCPV a lieu plus tard pendant le 5<sup>ème</sup> âge, les nymphes qui se forment sont comparativement plus saines puisqu'on enregistre un poids nymphal plus élevé (11,25 g) chez les larves inoculées le 7<sup>ème</sup> jour. De même, le poids du cocon, le poids de la coque et le pourcentage de soie varient de 8,45 à 11,25 g, de 0,74 à 1,36 g et de 8,75 à 12,08 %, respectivement chez les larves du 5<sup>ème</sup> âge inoculées du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> jour par l'AmCPV. Chez le témoin, le poids du cocon, le poids de la coque, le pourcentage de soie enregistrés sont comparativement plus élevés 11,75g, 1,51 g et 12,85 % respectivement (Fig. 2). La survie des adultes ayant émergé à partir des larves inoculées par l'AmCPV au 5<sup>ème</sup> âge (1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> jour) est respectivement de 4,50 ; 7 ; 11,50 ; 15,25 ; 19,50 ; 20,25 et 22,50 % contre 45 % chez le témoin (Fig. 1).

La sévérité de la polyédrose cytoplasmique est influencée par plusieurs facteurs comme la sensibilité des vers à soie au pathogène, la nutrition, les composants environnementaux, etc... On peut avancer que l'infestation par le virus de la polyédrose cytoplasmique du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour chez les larves du ver à soie du 5<sup>ème</sup> âge entraîne une plus grande diminution de la survie des larves, des nymphes et des adultes tout en ayant un effet sur le coconage, la nymphose, le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse.

Les vers à soie qui sont inoculés le premier et le deuxième jour du 5<sup>ème</sup> âge commencent à montrer les symptômes de la virose après le sixième jour. Cependant, l'ET50 pour la mortalité larvaire est de 9,12 jours chez les vers à soie inoculés le premier jour.

Après 24 h d'inoculation, les polyèdres commencent fréquemment à apparaître et en 48 heures, elles atteignent la plupart des cellules (Trager, 1935). Dans les tissus adipeux des vers à soie infestés, le noyau présente une forme tétraédrique à la place du rhombododécèdre normal (Bergold, 1943). Quand le CPV est inoculé au dernier stade chez *Antheraea mylitta*, les larves commencent à devenir jaunes du 4<sup>ème</sup> au 7<sup>ème</sup> jour et elles commencent à mourir entre le 9<sup>ème</sup> et le 10<sup>ème</sup> jour ; les conséquences de l'infestation sur les caractères économiques sont donc plus accentuées chez les larves inoculées entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> jour que chez celles inoculées le 7<sup>ème</sup> jour.

Les observations de cette étude sur la diminution du poids des larves matures à la suite de l'infestation par l'AmCPV pendant les différents jours du 5<sup>ème</sup> âge sont en accord avec celles de Philip & Jacob (1981) qui ont relevé une diminution du poids larvaire de *Pericallia ricini* infesté par le virus de la granulose. Dans cette expérience, la diminution du poids du cocon chez les larves infestées par l'AmCPV correspond aux observations d'Hadimani (1980) qui a rapporté une diminution du poids du cocon après l'infestation du ver à soie *Bombyx mori* par le virus Kenchu.

## STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SILK YIELD, YIELD COMPONENTS AND REARING ENVIRONMENT OF MUGA SILKWORM *ANTHERAEA ASSAMA* Ww.

MONICA CHAUDHURI (nee Mukhopadhyay)

Assistant Director, Muga Seed Development Project, Central Silk Board, Guwahati 781 005, India.

*Commercial exploitation of 'Muga' - the semi wild silkworm of India - *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera: Saturniidae) was confined to the North Eastern region of India till the recent past. Now it has been almost 3 years that muga culture is providing gainful employment outside the region too. Commercially muga silkworms are reared mainly on 2 primary host plants: *Persea bombycina* (Syn. *Machilus bombycina* King) and *Litsaea monopetala* (Syn. *Litsaea polyantha* Juss) both belonging to the family Lauraceae of the order Laurales. Traditional preferences towards host plants and seasons for purposes like raising reeling cocoon crops for silk come in the way of extension many a times. Therefore, a model on silk-yield-environment— yield components, hitherto not attempted in the field of muga culture, has been developed with the help of stepwise forward selection among 6 independent variables regressing over shell weight. In a muga silk versus environment and yield components model, the contribution imparted by variability in food plants, rearing seasons, weight of female larvae and total larval mortality percent were outweighed by those of larval period and weight of male larvae. The final equation unravels that shorter larval duration coupled with heavier male larvae in the population is an indicator of more muga silk yield. The value of coefficient of determination ( $R^2$ ) of the final regression (0.602) is evocative of the fitness of the model.*

**Keywords:** Muga silkworms, cocoon shell yield model, yield components and environments.

### INTRODUCTION

The semi wild silkworm of India *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera: Saturniidae) have been commercially exploited since centuries in the North Eastern region of India [Chaudhuri (nee Mukhopadhyay) and Das, 2001].

The region served as an exclusive ecological niche for this species of silkworm (Chowdhury, 1971), known in India as 'muga' till very recently. But with the advent of projects supported by United Nations Development Programmes and meticulous effort from the extension network of Central Silk Board, India mugaculture has started gaining footholds in non traditional areas too [Chaudhuri (nee Mukhopadhyay) *et al.*, 2002]. Commercially, muga silkworms are reared mainly on 2 primary host plants: *Persea bombycina* (Syn. *Machilus bombycina* King) and *Litsaea monopetala* (Syn. *Litsaea polyantha* Juss) both belonging to the family Lauraceae of the order Laurales.

Being reared outdoor, the larvae of *A. assama* like those of *A. yamamai* (Japanese oak tassar), *A. pernyi* and *A. mylitta* (tropical tassar), have adjusted themselves to a certain degree against all kinds of selection forces of nature (Crotch, 1956; Yamazaki, 1959).

Categorically different response of muga worms towards different types of host plants belonging to the same species was observed by Bharali (1982) during the course of his investigation on the growth and development of muga silkworm on different morpho-physico types of *P. bombycina*.

Yadav and Goswami (1989) and Yadav *et al.* (1990, 2000) showed the relationship between the weights of cocoon, pupa and shell through correlation and regression analysis between cocoon and shell weight of muga silkworm reared on *P. bombycina* and *L. monopetala* as well as during different rearing seasons on only *P. bombycina*. They indicated that the association between cocoon weight and shell weight of muga silkworm varied from geographical areas, host plants and environmental conditions during rearing period.

Weight of cocoon shells, being an indicative of silk yield, is the yield parameter of utmost importance and a comprehensive study on effects of yield components integrated on muga silk yield or a silk-yield—environment—yield components model is still lacking. The objective of this paper is to:

1. quantify the contribution of environmental factors as well as life cycle traits on response variable and
2. identify the most important trait(s) affecting the muga silk yield.

## MATERIALS AND METHODS

The investigation covered a series of rearing of P-4 muga silkworm stock and was conducted at the basic seed farm under Muga Seed Development Project at Tura, Meghalaya located at 25° 30' N : 90° 16' E; 478 MSL on *Persea* and *Litsaea* plants. Host plant specific rearing was conducted in randomised block design successively during all the six rearing seasons of the year starting since monsoon, 1996 till summer 1999 spanning 3 years and data on the values of total larval mortality percentage, weights of mature male and female larvae, larval period and average shell weight were recorded separately for each population. Mean performance data were derived from the primary data. Stepwise forward selection among 6 independent variables regressing over shell weight was carried out using an SPSS 10.0 computer programme.

## RESULTS AND DISCUSSION

Average data on the climatic conditions under which rearing of muga silkworm was conducted are presented in Table I. In addition to different feeding environments provided by 2 host plants, the climatic variability also facilitated six rearing environments during 6 seasons in a year, during which muga cocoon crops are reared traditionally as evident in the Table.

### Mean performance:

The comparative estimates of quantitative response of life cycle traits of muga silkworms reared on *P. bombycina* and *L. monopetala* are enumerated in Table II. Each of the populations showed wide range of variability within and between themselves in respect of the traits studied but the mean values did not show much difference except for the total larval mortality (46.2% and 41.5%). The mean values indicated that larval mortality percent and average shell weight (0.53 gm and 0.51 gm) were numerically higher among the muga silkworms fed on *L. monopetala*. This finding is in partial argument with that of Hazarika *et al.* (1998) reporting higher shell yield in case of rearing on *P. bombycina*, but the rearing data during a single season were taken into account.

### Prediction:

To assess the relative importance of different factors attributing towards the expression of average cocoon shell weight multiple regression analysis was worked out keeping average cocoon shell weight (ASW) as the dependent and food plants (FP), season (SN), weight of male and female larvae (LWM and LWF), larval period (LP) and total larval mortality (TLS) during rearing as independent variables. The resultant multiple regression equation presented in Table III(a) elucidates the influence of the



independent variables expressed in terms of regression coefficients, all of which were of low numerical values as follows:

$$\text{(Initial equation) ASW} = 0.151 + 4.192E-03 \times \text{FP} - 2.731E-03 \times \text{SN} + 3.662E-02 \times \text{LWM} + 2.448E-02 \times \text{LWF} - 3.496E-03 \times \text{LP} - 2.217E-05 \times \text{TLS}$$

**Table I. Average climatic condition under which investigative rearing of muga silkworm was undertaken.**

*Tableau I. Conditions climatiques moyennes sous lesquelles les expériences d'élevage ont été entreprises.*

(Location / Lieu : Latitude 25<sup>o</sup> 30' N and Longitude 90<sup>o</sup> 16' E; 478 MSL)

Muga crop seasons	Month	Minimum Temp. (0°C)	Maximum Temp. (0°C)	Minimum RH%	Maximum RH%	Rainfall (mm)	Rainy Days
Saisons d'élevage du muga	Mois	Temp. minimum (0° C)	Temp. maximum (0° C)	% d' H. R. minimum	% d' H. R. maximum	Précipitations (mm)	Jours de pluie
<b>1. Spring / Printemps</b>							
	February / février	17	23	50.5	74.7	7.8	2
	March / mars	20.3	27.4	49.5	71.6	45	3
<b>2. Summer / Été</b>							
	April / avril	22.6	28.8	56.8	78.7	97.3	6
	May / mai	24.3	29.6	66.4	82.6	257.2	13
<b>3. Monsoon / Mousson</b>							
	June / juin	24.6	28.5	75	87.9	498.3	20
	July / juillet	25.1	28.6	79.4	90.2	396.8	17
<b>4. Late-monsoon / Fin de la mousson</b>							
	August / août	25	28.2	80.6	90.1	374.7	19
<b>5. Autumn / Automne</b>							
	September / septembre	24.6	27.8	80.6	90.3	240.2	15
	October / octobre	22.8	27.2	70.9	84.9	205.1	6
<b>6. Winter / Hiver</b>							
	November / novembre	19.7	24.6	64	80.9	13.9	1
	December / décembre	16.2	21.2	62.9	80.2	10.4	1
	January / janvier	14.1	19.6	59.3	78.6	6.1	1

**Table II.** Mean estimates of different life cycle parameters in muga silkworm fed on *Litsaea* and *Persea*.**Tableau II.** Estimations moyennes des différents paramètres du cycle de vie chez le ver à soie muga nourri sur *Litsaea* et *Persea*.

Parameters	Minimum		Maximum		Mean ± SE	
	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>
Host plants	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>
Paramètres	Minimum		Maximum		Moyenne ± Ecart type	
Plantes hôtes	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>	<i>Litsaea</i>	<i>Persea</i>
Male larva wt.(g) <i>Pds de la larve mâle (g)</i>	5.4	4.17	8.02	7.88	6.78 ± 0.2	6.5 ± 0.2
Female larva wt.(g) <i>Pds de la larve femelle (g)</i>	4.80	5.40	11.00	10.80	9.7 ± 0.2	9.2 ± 0.2
Larval duration (day) <i>Durée larvaire (jours)</i>	22.00	22.00	54.00	47.00	29.9 ± 2.7	29.9 ± 2.0
Total mortality (%) <i>Mortalité totale (%)</i>	6.71	5.68	81.03	96.97	46.2 ± 4.7	41.5 ± 7.0
Average shell wt (g) <i>Pds moyen de la coque (g)</i>	0.8	0.76	1.38	1.37	0.53 ± 0.02	0.51 ± 0.03

Therefore, stepwise forward multiple regression analysis was then adopted to estimate the relative significance of independent variables in determining the best prediction equation for the dependent variable i.e. average cocoon shell weight. The result of multiple step regression analysis is presented in Table III (a).

Of the 6 independent variables versus the dependent variable as cocoon shell weight, only larval period at the first step and then along with it the weight of male larva was included as per forward selection criteria for improving the prediction of dependent variable. The forward selection was stopped with the inclusion of male larval weight as no other variable further improved the prediction of average shell weight. Larval period had significant adjusted coefficients of determination ( $R^2$ ) values at both stages of stepwise selection. Addition of the second variable as male larval weight resulted in significant increase (F change) in  $R^2$  and the final  $R^2$  value was the highest for weight of male larva (0.602).

Table III (b) further elucidates that the slope (B) of larval period over cocoon shell weight was significantly linear and negative, which was also supported by relatively high value of standardised regression coefficients ( $\beta$ ). But wide difference between the correlation (-0.708) and partial correlation (-0.511) indices indicated contribution of other factors towards expression of average shell weight. The slope (B) of weight of male larva over cocoon shell weight was also significantly linear but positive and involvement of other factors cannot be ignored as evident from lower value of standardised regression coefficients ( $\beta$ ) and wider difference between the correlation (0.702) and partial correlation (0.497) coefficients. The final regression equation thus resulted was as follows:

$$ASW = 0.329 - 4.671E - 03 \times LP + 4.928E - 02 \times LWM$$

**Table III (a). Result of multiple stepwise regression analysis for cocoon shell weight of *A. assama*.**

**Tableau III. (a) Résultat de l'analyse de régression à phases multiples pour le poids de la coque soyeuse d'*A. assama*.**

Multiple regression equation for average shell weight: / Equation de régression multiple pour le poids moyen de la coque :

$$ASW = 0.151 + 4.192E-03 \times FP - 2.731E-03 \times SN + 3.662E-02 \times LWM + 2.448E-02 \times LWF - 3.496E-03 \times LP - 2.217E-05 \times TLS$$

Dependent variable: average cocoon shell weight / Variable dépendante : poids moyen de la coque soyeuse.

Step	R	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Change	F Change
Phase	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajuste	Changement R <sup>2</sup>	Changement F
LP	0.708	0.501	0.487	0.501	34.198*
+ LWM	0.790	0.625	0.602	0.123	10.845*

\* Significant at  $P < 0.05$  / \* Significatif au seuil de  $P < 0,05$ .

Stepped down equation / Equation démultipliée :

$$ASW = 0.329 - 4.671E-03 \times LP + 4.928E-02 \times LWM$$

**Table III (b). Estimates from stepwise regression indices for different independent variables.**

**Tableau III. (b) Estimations à partir des indices de régression pour différentes variables indépendantes.**

Dependent Variable: average cocoon shell weight / Variable dépendante : poids moyen de la coque soyeuse.

Variable	B	B	Correlation	Partial correlation
			Corrélation	Corrélation partielle
(Constant) / (Constante)	0.329			
LP	-4.671E-03*	-0.451	-0.703**	-0.511**
LM	4.928E-02*	0.435	0.702**	0.497*

\* Significant at  $P < 0.05$  / \* Significatif au seuil de  $P < 0,05$ .

\*\* Significant at  $P < 0.01$  / \*\* Significatif au seuil de  $P < 0,01$ .

Therefore, for development of a muga silk versus environment and yield components model, the contribution imparted by variability in food plants, rearing seasons, weight of female larvae and total larval mortality percent were outweighed by those of larval period and weight of male larvae. The final equation can be interpreted as shorter larval duration coupled with heavier male larvae in the population is an indicator of more muga silk yield. Nevertheless, seasonal influence on larval duration of outdoor-reared muga silkworm cannot be overruled altogether. This corroborates our earlier study (Chaudhuri *et al.* 1999, 2002) on effect of climatic variability on muga cocoon productivity and path analysis on muga cocoon shells. The yield-environment-yield component model derived from the present study is expected not only to rule out traditional bias towards seasonal preference for rearing and host plant preference between *P. bombycina* and *L. monopetala* but also serve as a useful criterion for the recent thrust on extension of muga culture.

### ACKNOWLEDGEMENT

Permission granted by the Director (NE), Central Silk Board for the study, muga silkworm rearing supervised by Mr. S.S. Singh, Senior Research Officer and statistical model practically taught by Dr. S.N. Chatterjee, Joint Director, presently posted respectively at the Regional Tassar Research Station, Batot, Kashmir and Seribiotech, Res. Lab. Bangalore, of Central Silk Board, Ministry of Textile, Govt. of India are gratefully acknowledged.

### REFERENCES

- BHARALI N. (1982). 15<sup>th</sup> Cong. of the Internat. Silk Assoc. held in London. 37-40.
- CHAUDHURI M, SINGH S.S. DAS, B. DHAR, N.J. BASUMATARY, B. GOSWAMI, D. DAS, K. BARAH A. SAHU, M. KAKOTY, L.N. CHATTERJEE, S.N (1999). Climatic variability in nine locations of North East India and their effect on cocoon productivity of Muga silkworm (*Antheraea assama* Ww). *Sericologia* 39(4): 577-591.
- CHAUDHURI (nee Mukhopadhyay), Monica & DAS, P.K. (2001). Promotion of muga silk under TRIPs regime. *Indian Silk*. 39 (12): 18-19.
- CHAUDHURI (nee Mukhopadhyay), Monica, SEN, S.K. DAS, P.K. & SINGH S.S. (2002). Quantitative estimation of genetic contrivances of silk accumulation on muga (*Antheraea assama* ww) cocoon shells derived from chief primary host plants. 89<sup>th</sup> Indian Sci. Congr.(Lucknow), Abs. (Agril.) 59.
- CHOWDHURY S.N. (1970). Muga Culture. Directorate of Sericulture and Weaving. Govt. of Assam, India. 15-36.
- CROTCH W. J. B. A. 1956. Silk moth rearers' handbook. The Amature Entomologists' Society. 12: 55-130.
- HAZARIKA L.K, SAIKIA C.N., KATAKY A, BORDOLOI S. & HAZARIKA J.(1998) Evaluation of physico chemical characteristics of silk fibres of *Antheraea assama* reared on different host plants. *Bioresource-Technol.* Oxford, U.K: Elsevier Sci. Ltd. 64(1): 67-70.
- YADAV G.S & GOSWAMI B.C. (1989). Correlation and regression analysis between cocoon weight and shell weight of muga silkworm on two different types of food plants. *Sericologia*. 29 (2): 219-224.
- YADAV G.S. & GOSWAMI B.C. SENGUPTA A.K. & PRASAD, D.N. (1990). Correlation and regression analysis between cocoon weight and pupa weight of muga silkworm (*Antheraea assama* Westwood) during two commercial crops. *J. of Assam Sci.Soc.* 33 (1): 63-69.
- YADAV G.S. & GOSWAMI B.C. & SINHA S.S. (2000). Studies on association between cocoon weight and silk of muga silkworm (*Antheraea assama* Westwood) during different broods. *Internat. J. of Wild Silkmoth and Silk*. 5 : 221-225.
- YAMAZAKI H. (1959). Present status of rearing of *A. yamamai* and *A. pernyi* and its future design. *Bull.* 25. Central Silk Board, Bombay.



## ETUDES SUR LA RELATION ENTRE LE RENDEMENT EN SOIE, LES COMPOSANTES DU RENDEMENT ET L'ENVIRONNEMENT D'ELEVAGE DU VER A SOIE MUGA *ANTHERAEA ASSAMA* Ww.

MONICA CHAUDHURI (nee Mukhopadhyay)

Assistant Director, Muga Seed Development Project, Central Silk Board, Guwahati 781 005, Inde.

L'exploitation commerciale du " Muga " - le ver à soie semi sauvage d'Inde - *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera : Saturniidae) était confinée à la région du nord-est de l'Inde jusqu'à un passé récent. Celo fut maintenant presque 3 ans que l'élevage du muga fournit des emplois lucratifs également en dehors de la région. Les vers à soies muga destinés à l'exploitation commerciale sont élevés sur 2 plantes hôtes principales : *Persea bombycina* (Syn. *Machilus bombycina* King) et *Litsaea monopetala* (Syn. *Litsaea polyantha* Juss) qui appartiennent toutes les deux à la famille des Lauraceae de l'ordre des Laurales. Les préférences traditionnelles pour les plantes hôtes et les saisons dans le but d'obtenir des récoltes de cocons pour le dévidage de la soie présentent très souvent une tendance vers l'extension. On a donc mis au point un modèle soie - rendement - environnement - composantes de rendement, qui n'a pas été essayé jusqu'à présent dans le domaine de l'élevage du muga à l'aide d'une sélection avancée avec 6 variables indépendantes régressant par rapport au poids de la coque. Dans un modèle soie muga contre environnement et composantes du rendement, la contribution provenant de la variabilité de la durée larvaire et du poids de la larve mâle l'emporte sur celle provenant des plantes hôtes, des saisons d'élevage, du poids des larves femelles, et du pourcentage total de mortalité larvaire. L'équation finale révèle qu'une durée larvaire plus courte associée à des larves mâles plus lourdes dans la population est un indicateur d'un rendement plus important en soie muga. La valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) de la régression finale (0,602) montre la justesse du modèle.

### INTRODUCTION

Le ver à soie semi sauvage indien, *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera : Saturniidae) est exploité commercialement depuis des siècles dans la région du nord-est de l'Inde [Chaudhuri (nee Mukhopadhyay) et Das, 2001]

La région sert de niche écologique exclusive pour cette espèce de ver à soie (Chowdhury, 1971), connue en Inde en tant que " muga " jusqu'à très récemment. Mais avec l'avènement de projets soutenus par les Programmes de Développement des Nations Unies et les efforts méticuleux du réseau de vulgarisation du *Central Silk Board*, l'élevage du muga en Inde a commencé à gagner du terrain dans des zones non traditionnelles [Chaudhuri (nee Mukhopadhyay) et coll., 2002]. Les vers à soie muga exploités sur le plan commercial sont élevés principalement sur 2 plantes hôtes primaires : *Persea bombycina* (Syn. *Machilus bombycina* King) et *Litsaea monopetala* (Syn. *Litsaea polyantha* Juss) appartenant toutes les deux à la famille des Lauraceae de l'ordre des Laurales.

Etant élevées à l'extérieur, les larves d'*A. assama* comme celles d'*A. yamamai* (tasar du chêne japonais) d'*A. pernyi* et d'*A. mylitta* (tasar tropical) s'adaptent elles mêmes à un certain degré contre tous les types de forces de sélection de la nature (Crotch, 1956 ; Yamazaki, 1959).

Bharali (1982) a observé une réponse catégoriquement différente des vers muga envers différents types de plantes hôtes appartenant à la même espèce au cours de son étude sur la croissance et le développement du ver à soie muga sur différents types morpho-physiques de *P. bombycina*.

Yadav et Goswami (1989) et Yadav et coll., (1900, 2000) ont montré la relation entre les poids du cocon, de la nymphe et de la coque par l'analyse de régression et la corrélation entre le poids de la coque et du cocon du ver à soie muga élevé sur *P. bombycina* et *L. monopetala* ainsi que pendant différentes saisons d'élevage sur seulement *P. bombycina*. Ils ont indiqué que la relation entre le poids du cocon et le poids de la coque du ver muga varie en fonction des zones géographiques, des plantes hôtes et des conditions environnementales pendant la période d'élevage.

Le poids des coques soyeuses étant un indicateur du rendement en soie, c'est un paramètre de rendement de la plus grande importance et l'absence d'une étude globale sur les effets des composantes du rendement intégrées au rendement en soie muga ou d'un modèle soie-rendement-environnement- composantes de rendement se fait sentir. L'objectif de cet article est de :

- 1. quantifier la contribution des facteurs environnementaux ainsi que des caractéristiques du cycle de vie sur la variable de réponse et
- 2. d'identifier le(s) caractéristique(s) les plus importantes ayant un effet sur le rendement en soie muga.

## MATERIELS ET METHODES

L'étude couvre une série d'élevages avec le ver à soie muga de la souche P4 et a été réalisée dans un grainage sommaire dans le cadre du Projet de Développement de Graines du Muga à Tura, dans le Meghalaya située à 25° 30' N ; 90° 16' E ; à 478 m au-dessus du niveau de la mer sur des plants de *Persea* et de *Litsaea*. On procède à l'élevage spécifique en fonction de la plante hôte selon une conception en blocs aléatoires successivement pendant les six saisons d'élevage de l'année commencé depuis la mousson 1996 jusqu'à l'été 1999 sur 3 ans et les données sur le pourcentage de mortalité larvaire totale, les poids des larves mâles et femelles, sur la durée larvaire et sur le poids moyen de la coque sont enregistrées séparément pour chaque population. On obtient les données sur la performance moyenne à partir des données primaires. On procède à une sélection par étape à partir de six variables indépendantes donnant une régression par rapport au poids de la coque en utilisant un programme informatique SPSS 10.0.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les données moyennes sur les conditions climatiques pendant lesquelles l'élevage du ver à soie muga a été réalisé sont présentées dans le Tableau I. Les différents environnements de nourrissage fournis par les 2 plantes hôtes mais aussi la variabilité climatique facilitent les six environnements d'élevage pendant les 6 périodes de l'année au cours desquelles les récoltes de cocons muga sont faites traditionnellement comme le montre le Tableau.

### Performance moyenne :

Les estimations quantitatives comparatives pour les caractéristiques du cycle de vie des vers à soie muga élevés sur *P. bombycina* et *L. monopetala* sont présentées dans le Tableau II. Chacune des populations présente un degré étendu de variabilité à l'intérieur et entre elles par rapport aux traits étudiés mais les valeurs moyennes ne présentent pas beaucoup de différence sauf pour la mortalité larvaire totale (46,2 % et 41,5 %). Les valeurs moyennes indiquent que le pourcentage de mortalité larvaire et le poids moyen de la coque (0,53 g et 0,51 g) sont plus élevés chez les vers à soie muga nourris sur *L. monopetala*. Cette observation est en contradiction partielle avec celle d'Hazarika et

coll. (1998) qui ont signalé un rendement en coques plus élevé avec l'élevage sur *P. bombycina* mais les données d'élevage n'ont été prises en compte que pendant une saison.

### Prédiction :

Pour évaluer l'importance relative des différents facteurs envers l'expression du poids moyen de la coque soyeuse, on a recours à l'analyse de régression multiple en conservant le poids moyen de la coque soyeuse (ASW) comme variable dépendante et les plantes hôtes (FP), la saison (SN), le poids des larves mâles et femelles (LWM et LWF), la durée larvaire (LP) et la mortalité larvaire totale (TLS) pendant l'élevage comme variables indépendantes. L'équation de régression multiple qui en résulte présentée dans le Tableau III(a) explique l'influence des variables indépendantes exprimée en termes de coefficients de régression, qui ont tous des valeurs numériques faibles comme suit :

(Equation initiale)  $ASW = 0,151 + 4,192E-03 \times FP - 2,731E-03 \times SN + 3,662E-02 \times LWM + 2,448E-02 \times LWF + 3,496E-03 \times LP - 2,217E-05 \times TLS$

Donc, l'analyse de régression multiple en fonction du stade est ensuite adoptée pour estimer la signification relative des variables indépendantes pour déterminer la meilleure équation de prédiction pour la variable poids moyen de la coque soyeuse. Le résultat de l'analyse de régression à phases multiples est présenté dans le Tableau III (a).

Sur les 6 variables indépendantes par opposition à la variable dépendante, le poids de la coque soyeuse, seule la durée larvaire à la première phase et le poids de la larve mâle sont inclus comme critères de sélection pour améliorer la prédiction de la variable dépendante. La sélection avancée est arrêtée avec l'inclusion du poids larvaire mâle puisque aucune autre variable n'améliore d'avantage la prédiction du poids moyen de la coque. La durée larvaire a des coefficients ajustés significatifs pour les valeurs de détermination ( $R^2$ ) aux deux stades de sélection en fonction de l'étape. L'ajout de la deuxième variable comme le poids larvaire mâle entraîne une augmentation significative (changement F) de  $R^2$  et la valeur finale  $R^2$  est la plus élevée pour le poids de la larve mâle (0,602).

De plus, le Tableau III (b) explique que la pente (B) de la durée larvaire en fonction du poids de la coque soyeuse est significativement linéaire et négative, ce qui est aussi confirmé par une valeur relativement élevée pour les coefficients de régression standardisés ( $\beta$ ). Mais une grande différence entre les indices de corrélation (-0,708) et de corrélation partielle (-0,511) indique la contribution d'autres facteurs envers l'expression du poids de la coque moyenne. La courbe (B) du poids de la larve mâle en fonction du poids de la coque soyeuse est aussi significativement linéaire mais positive et on ne peut pas ignorer l'implication d'autres facteurs comme le prouve la valeur plus faible pour les coefficients de régression standardisés ( $\beta$ ) et la différence plus importante entre les coefficients de corrélation (0,702) et de corrélation partielle (0,497). L'équation finale de régression qui en découle est donc la suivante :

$ASW = 0,329 - 4,671E-03 \times LP + 4,928E-02 \times LWM$

Donc, pour un modèle soie muga en fonction de l'environnement et des composantes du rendement, la contribution provenant de la variabilité de la durée larvaire et du poids de la larve mâle l'emporte sur la variabilité des plantes hôtes, des saisons d'élevage, du poids des larves femelles et du pourcentage total de mortalité larvaire. On peut interpréter l'équation finale puisque une durée larvaire plus courte associée à des larves mâles plus lourdes dans la population est un indicateur d'un rendement en soie muga plus important. Néanmoins, on ne peut pas entièrement écarter l'influence saisonnière sur la durée larvaire du ver à soie muga élevé à l'extérieur. Cela confirme notre étude précédente (Chaudhuri et coll., 1999, 2002) sur l'effet de la variabilité climatique sur la productivité du cocon muga et l'analyse Path sur les coques soyeuses du muga. On pense que le modèle rendement-environnement-composantes de rendement tiré de cette étude rend non seulement caduque la croyance traditionnelle de préférence saisonnière pour l'élevage et en matière de plante hôte entre *P. bombycina* et *L. monopetala* mais constitue aussi un outil utile pour la dynamique d'extension de l'élevage du muga.

## MOLECULAR PHYLOGENY OF GENUS *MORUS* BASED ON cpDNA trnL-trnF SEQUENCE DATA

ZHAO WEI-GUO, ZHANG ZHI-FANG & PAN YI-LE

Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 212018, Zhenjiang, Jiangsu Province, China.

*Mulberry trees are the most important cash crop for rearing mulberry silkworms in sericulture. Improved varieties of mulberry tree have been developed through traditional breeding procedures. Not much work, however, has been carried out on the molecular characterization of these varieties. So in this paper, we analyse genetic relationship based on the trnL-trnF intergenic spacer region sequence data.*

*Twenty one mulberry accessions, which belong to 12 species and 3 varieties and 7 species designated as outgroups, six of which were cited from Gene bank, were examined for phylogeny analysis in this study. We sequenced the chloroplast DNA (cpDNA) trnL-trnF intergenic spacer (438 aligned base pairs[bp]). Inferred phylogenetic relationship using the Maximum Likelihood (DNAML) method indicated genus *Morus* has a monophyletic and phylogenetic relationship among 21 mulberry materials which was further determined. The result from cluster analysis indicated they are basically consistent with the morphological classification.*

**Keywords :** *Morus* L., cpDNA, phylogeny, trnL-trnF intergenic spacer sequence.

### INTRODUCTION

Mulberry (*Morus* L.) is one of the most important crop plant in sericulture as mulberry silkworms (*Bombyx mori* L.) are reared on them. Mulberries are a group of small trees or shrubs belonging to the family Moraceae, distributed in the temperate and subtropical regions of the northern hemisphere. In China, there are about 3,000 mulberry germplasm resources, which comprise 15 varieties and 4 varieties (Pan, 2000).

Mulberry is the base of sericultural production. Enhanced genetic potential of mulberry for increased leaf yield and improved leaf quality has been a major contribution to the success of sericultural development in China. The objectives of mulberry breeding is to identify and create genetic variability to assemble into the productive genotype and to match the genotype to the appropriate environment. Therefore, evaluating genetic relationship is important for long term improvement in mulberry yield, quality and resistance.

Mulberry is widely distributed geographically, easily adaptable to different agro-climate conditions, quick in rejuvenation, amenable to various training and pruning methods can be propagated through both asexual and sexual ways, easier to produce naturally and artificially as an hybrid, which makes the mulberry genetic background rather complex (Dandin, 1998). Many approaches have been reported for the study of systematics in mulberry. Morphological analysis is one of the commonly utilized method in mulberry. Karyotypes/cytogenetics, isozyme analysis, etc have been also used to characterize germplasm and to study taxonomical relationship. However, very little information is available on the characterization of mulberry by DNA sequencing (Zhao *et al.*,



1999; 2002). At the present day, the classification of the genus *Morus* is rather highly debated and is quite arbitrary.

Recent advances in molecular biology provide a convenient and rapid assessment of the differences in the genetic composition of the related individuals using DNA sequence data and they have been employed in a large number of plants to determine the genetic relationships. At present, a number of genes belonging to nuclear and chloroplast are widely used in molecular systematics (Wang *et al.*, 1997). Chloroplast DNA (cpDNA) has a low evolution rate and is used for phylogenetic studies at higher taxonomic levels (Zurawski *et al.*, 1984). More recently, the design of several universal primers for the amplification of noncoding cpDNA sequences has extended its utility (Taberlet *et al.*, 1991). Noncoding cpDNA sequences has been widely used to infer phylogenetic relationships at lower taxonomic levels (Olmstead *et al.*, 1994), for example among general species and also within species (Johnston and Soltis, 1994; Gielly and Taberlet, 1994; Fujii *et al.*, 1997). The purpose of this study was to examine phylogenetic relationships in the genus *Morus* based on the analysis of cpDNA trnL (UAA)-trnF (GAA) intergenic spacer sequences (IGS).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials:

Twenty-three individuals representing 12 species and 3 varieties of genus *Morus* and one individual of *Broussonetia papyrifera* designated as outgroup species were included in this study. All mulberry specimens are deposited in the national mulberry gene bank of the Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Zhenjiang, Jiangsu province, China. The sequences of other 6 species used as outgroup were cited from GenBank (Table I).

### Methods:

#### DNA extraction :

Total genomic DNA was extracted from 2 g of fresh leaves of mulberry using a modification of the Doyle and Doyle protocol (Doyle, 1987).

#### PCR amplification :

PCR amplification was performed in a 50  $\mu$ l volume containing 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M of each dNTP, 5 pM of each primer, and 1.5 U of Taq DNA polymerase (Takara Bio Inc.), 10 $\times$ PCR buffer (100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl, 0.01% gelatin), approximately 25 ng DNA template. The trnL-trnF intergenic spacer was amplified with primers " e " (5' -AAAATCGTAGGGTTCAAGTC-3' and " f " (5'-GATTGAACTGGTGACACGAG-3') (Taberlet *et al.*, 1991). Amplification reaction was carried out with following thermal cycles profiles: 1 cycle for 10 min. at 95 $^{\circ}$  C, then 38 cycles of 30s at 95 $^{\circ}$  C, 30s at 55 $^{\circ}$  C, 90 s at 72 $^{\circ}$  C, followed by a final extension of 7 min at 72 $^{\circ}$  C.

#### PCR product purification and sequencing :

The PCR product was purified through following protocol :

the PCR product was run through a 1% agarose gel in 1  $\times$  TBE buffer at 70-100 V. The PCR amplification band was excised from the agarose gel with a sterile razor blade. The excised band was incubated with 500-600  $\mu$ l of sodium iodide (NaI) solution (6 M) at 55 $^{\circ}$  C in a waterbath to melt the gel. Approximately 10  $\mu$ l of GLASSMILK suspension was added and incubated at room temperature for 5 minutes. The solution was mixed with GLASSMILK by inversion every 1-2 minutes to ensure it stayed suspended. After 5 minutes, the GLASSMILK was spun down in a microcentrifuge for a few seconds. The NaI supernatant solution was removed and the GLASSMILK pellet was washed three times with 500-600  $\mu$ l of NEW WASH solution (10 mM Tris-HCL, 0.5 mM EDTA, 50 mM NaCl, 50% ethanol). After washing, the pellet was dried for 5 minutes. The pellet was resuspended

with 20 µl of sterile ddH<sub>2</sub>O and incubated at 55° C in a waterbath for 3 minutes. Then the pellet was spun down in a microcentrifuge for a few seconds and the supernatant containing eluted DNA fragment was transferred into a new microfuge tube. PCR product purified was sequenced on an ABI 373 automated DNA sequencer using the Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit (PE Applied Bio-systems).

#### Data analysis:

Sequence alignments were conducted using the Clustal X, version 1.81 (Thompson *et al.*, 1997) and finally adjusted manually where necessary. The insertion/deletion mutations (indels) of unambiguous alignment were recoded as separate characters appended in the matrix. The data matrices are available upon request from the authors. The phylogenetic tree was constructed by the Maximum Likelihood (DNAML) method, version 3.573c of PHYLIP software. The phylogenetic tree was evaluated with bootstrap test of 1000 resamplings (Felsenstein, 1985).

## RESULTS AND DISCUSSION

The trnL-trnF IGS region sequences were determined in this study and their length varied from 318 to 412 bp. The average nucleotide composition was 0.2932 (A) 0.3404 (T) 0.1807 (C) 0.1857 (G). The mean G+C content is 0.3664% which indicated that the spacer region sequences were characterised by AT-rich fragment. The transition : transversion ratio of the spacer region was 1.653. After alignment, there are 438 base positions in the trnL-trnF data matrix, of which 236 nucleotide sites were variable and 108 were parsimony-informative.

Molecular phylogenetic analysis was done using sequence data of each region with *B. papyrifera* as an outgroup species. Strict consensus tree was obtained through the Maximum Likelihood (DNAML) method (Fig. 1). Clustering showed that *Physocarpus capitatus* and *Prunus virginiana* were of the sister group of the family Rosebush and *Carduus nutans* and *Crepis tectorum* were the sister group of the family Compositae clade. Genus *Morus* was closely related to *Artocarpus heterophyllus* and *B. papyrifera* to *Ficus pretoriae* all of which formed the sister group of the family Moraceae. The results indicated they had a closer affinity to genus *Morus*. We further analysed the cluster of all materials which belong to the genus *Morus*. The clustering showed that all species of mulberry grouped together, which indicated that the genus *Morus* was monophyletic. The above result obtained from mulberry trnL-trnF intragenic sequence data was basically consistent with Hirano's viewpoint based on the study on isozymes and protein banding patterns among different species under the family Moraceae. Compared with other species of the family Moraceae, species which belong to the genus *Morus* had higher homology (Hirano, 1982). In the genus *Morus* clade, Gui No. 14 which belongs to *M. wittorum* was the sister to Yaan No. 4 which belongs to *M. cathayana*, all of which belong to *Macromorus* in the classification of the genus *Morus* (Koidzumi, 1917). Niuersang, Longchuanqiuyu, Naxisang, Wenqiesang and Baoqing No. 5, formed a clade, which indicated a closer relationship. Dejiang No. 10 formed a clade with Yunnanshuisang, all of which belong to *M. laevigata*. Lijiangshansang and Jianchi, which belonged to *M. bombycis* formed a clade with Chasang, all of which belong to *Dolichostylae* in the classification of the genus *Morus*. The above results from cluster analysis were basically in agreement with the existing morphologic classification. The present study also indicated that phylogenetic analysis using cpDNA trnL-trnF intergenic spacer region sequence data offer a reliable and an efficient method for assessing phylogenetic relationship.

**Table I. The source of materials and GenBank accession No.****Tableau I. Source des matériaux et no. d'exemplaire dans GenBank.**

Species	Accessions	Locality	GenBank Accession no.
Espèce	Variétés	Localité	No. d'exemplaire dans GenBank
<i>M. multicaulis</i> Perr.	Naxisang	Naxi city, Sichuan province, China	AY271293
<i>M. alba</i> Linn.	Niwersang	Yangcheng city, Shanxi province, China	AY271279
	Ahuan No. 1	Afghanistan	AY271276
	Longchuanqiuyu	Korea	AY271277
<i>M. alba</i> var. <i>pendula</i> Dipp.	Cuizhisang	Korea	AY271273
<i>M. alba</i> var. <i>macrophylla</i> Loud	Gongxianheiyousang	Gongxian city, Sichuan province, China	AY271289
<i>M. alba</i> var. <i>venose</i> Delile	Wengqisang	Zhouzhi city, Shanxi province, China	AY271275
<i>M. atropurpurea</i> Roxb.	Lunjiao No. 40	Sunde city, Guangdong province, China	AY271270
<i>M. bombycis</i> Koidz	Lijiangshansang Jianchi	Lijiang city, Yunnan province, China	AY271274
		Japan	AY271290
<i>M. mizuho</i> Hotta	Housang	Yuhang city, Zhejiang province, China	AY271278
<i>M. cathayana</i> Hems l.	Baoqing No. 5	Baoqing city, Hunan province, China	AY271271
	Yaan No. 3	Yaan city, Sichuan province, China	AY271272
<i>M. laevigata</i> Wall.	Dejiang No. 10 Yunnanshuisang	Dejiang city, Guizhou province, China	AY271288
		Yunnan province, China	AY271291
<i>M. mongolica</i> Schneid	Jimengsang	Jilin province, China	AY271285
<i>M. rotundiloba</i> Koidz.	T11	Thailand	AY271286
<i>M. wittiorum</i> Hand-Mazz	Qingegang No. 1 Gui No. 14	Dejiang city, Guizhou province, China	AY271283
		Bijie city, Guizhou province, China	AY271284
<i>M. australis</i> Poir	Chasang	Sichuan province, China	AY271292
<i>M. nigra</i> Linn.	Yaosang	Xingjiang autonomous region, China	AY267539
Outgroups / Hors groupe			
	<i>B. papyrifera</i>	Nanjing Forestry University, China	AY271281
	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	(From GenBank)	AJ390376
	<i>Ficus pretoriae</i>	(From GenBank)	AJ390366
	<i>Physocarpus capitatus</i>	(From GenBank)	AF318701
	<i>Prunus virginiana</i>	(From GenBank)	AF318695
	<i>Carduus nutans</i>	(From GenBank)	AF129825
	<i>Crepis tectorum</i>	(From GenBank)	U82027

Note : All mulberry materials sampled were from National Mulberry GenBank in the Sericultural Research Institute, CAAS, Zhenjiang, Jiangsu Province, China. / Tous les échantillons de mûrier matériaux proviennent de National Mulberry GenBank, du Sericultural Research Institute, CAAS, Zhenjiang, Province de Jiangsu, Chine.

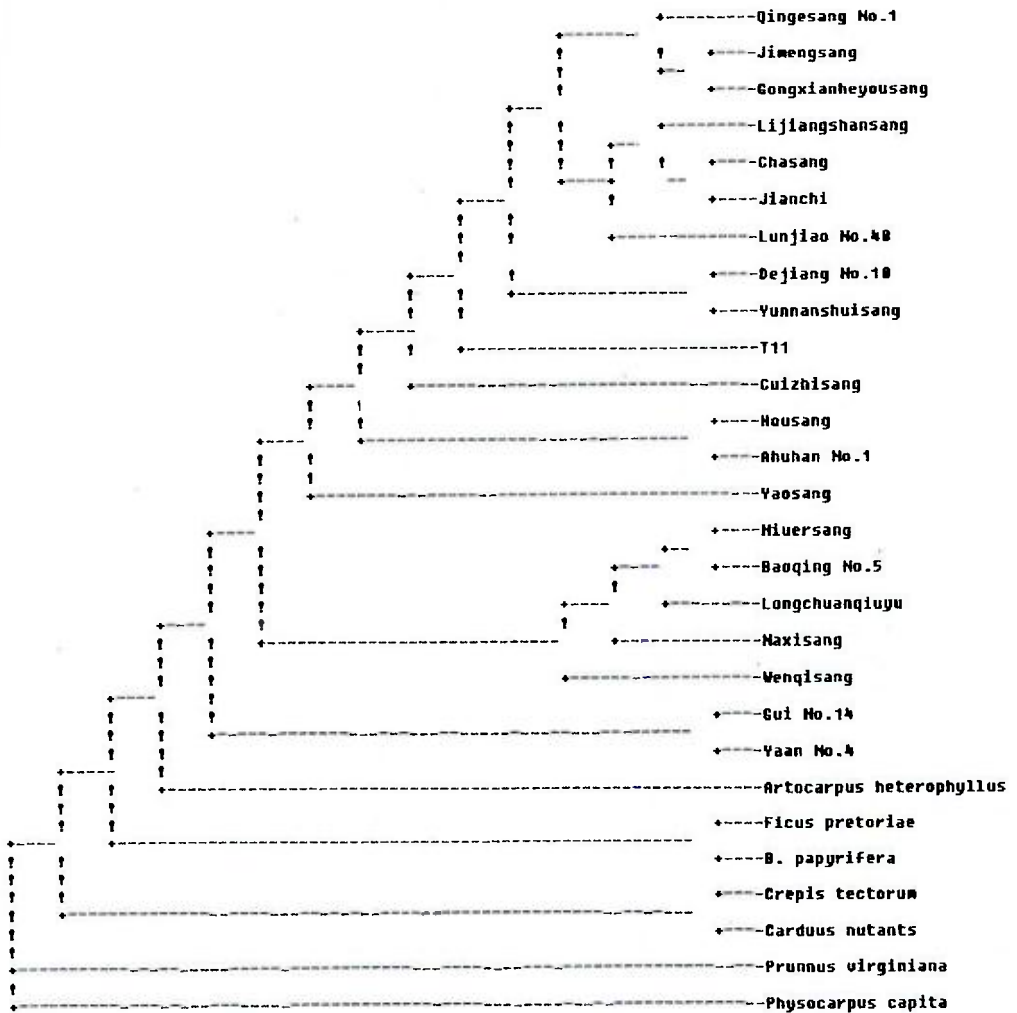


Fig 1. The phylogenetic tree inferred from the cpDNA trnL-trnF sequences using the Maximum Likelihood (DNAML) method.

Fig. 1. Arborecence phylogénétique déduite des séquences trnL-trnF en utilisant la méthode de la Probabilité Maximum (DNAML).

But more definitive resolution of the problems existing in mulberry classification may require utilization of results from additional studies using nuclear along with extra-nuclear informative data in future.



## ACKNOWLEDGEMENTS

We express our thanks to associate Prof. Zhang Lin, Mr Liu Li, Mr Cheng Yan for their assistance during the experiment.

## REFERENCES

- DANDIN S. B. (1998) Mulberry, a versatile biosource in the service of mankind. *Acta sericologic Sinica* 24(2) : 109-113.
- DOYLE J. J., DOYLE J. L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.* 19 : 11-15.
- FUJII N., K. UEDA, Y. WATANO & T. SHIMIZU (1997) Intraspecific sequence variation of chloroplast DNA in *Pedicularis chamissonis* Steven (Scrophulariaceae) and geographic structuring of Japanese "alpine" plants. *Journal of Plant Research* 110 : 195-207.
- FELSENSTEIN J. (1985) Confidence limits on phylogenies : an approach using the bootstrap. *Evolution* 39 : 783-791.
- GIELLY L. & TABERLET P. (1994) The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies : noncoding versus rbcL sequences. *Molecular Biological Evolution* 11 : 769-777.
- HIRANO H. (1992) Thremmatological studies of protein variation in mulberry (in Japanese). *Bull. Imp. Sericult. Exp. Sta.* 28 : 67-186.
- JOHNSON L. A. & SOLTIS D. E. (1994) matK DNA sequences and phylogenetic reconstruction in saxifragaceae s. s. *Systematic Botany* 19 : 143-156.
- KOIDSUMI G. (1917) Taxonomical discussion on *Morus* plants. (in Japanese) *Bull. Imp. Sericult. Exp. Sta.* 3 : 1-62.
- OLMSTEAD R. G. & J. A. SWEERE (1994) Combining data in phylogenetic systematics : an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Syst. Biol.* 43 : 467-481.
- PAN YILE (2000) Progress and prospect of germplasms resources and breeding of mulberry . *Acta Sericologic Sinica* 26(supplement) : 1-8.
- TABERLET P., GIELLY L., PAUTON G., BOUVET J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17 : 1105-1109.
- THOMPSON J. D., GIVSON T. J., PLEWNIAC F., JEANMOUGIN F. & HIGGINS D. G. (1997) The clustal-X windows interface : flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25 : 4876-4882.
- WANG XIAO-QUAN, HONG DE-YUAN (1997) Progress in molecular systematics of plants in recent five years. *Acta phytotaxonomica Sinica* 35(5) : 465-480.
- ZHAO WEIGUO, PAN YILE (1999) DNA molecular markers and its application in the mulberry, *Morus L.* *Sericulture in China* 82 : 40-41.
- ZHAO WEIGUO, PAN YILE, PAN GANG (2002) Methods of molecular systematics and its application in study of mulberry, *Morus L.* *Acta Sericologic Sinica* 28 (supplement) : 1-4.
- ZURAWSKI G., CLEGG M. T. & BROWN H. D. (1984) The barley chloroplast DNA atpBE, tmM2 and tmV1 loci. *Nucleic acids Research* 12 : 2549-2559.

## PHYLOGENIE MOLECULAIRE DU GENRE *MORUS* D'APRES LES SEQUENCES DE L'ADNcp trnL-trnF

ZHAO WEI-GUO, ZHANG ZHI-FANG & PAN YI-LE

Key Laboratory of Silkworm Biotechnology, Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, 212018, Zhenjiang, Jiangsu Province, Chine.

*Les mûriers sont la culture de rapport commercial la plus importante pour élever les vers à soie mûrier en sériciculture. On a mis au point des variétés de mûrier améliorées grâce à des procédures de lignage traditionnelles. Par contre, peu d'études ont été entreprises sur la caractérisation moléculaire de ces variétés. Nous avons donc entrepris dans cet article l'analyse des relations génétiques d'après les séquences de la zone intergénique trnL-trnF. Dans cette étude, nous avons procédé à l'analyse phylogénétique de vingt et une variétés de mûrier qui appartiennent à 12 espèces et 3 variétés et de 7 espèces désignées hors groupe, dont six viennent de GenBank. Nous avons séquencé l'ADN du chloroplaste (ADNcp) de la zone du segment intergénique trnL-trnF (438 paires de bases [bp]). La relation phylogénétique déduite d'après la méthode de Probabilité Maximum (DNAML) indique que le genre *Morus* a une relation monophylétique et phylogénétique parmi les 21 mûriers, que l'on a déterminée plus en détail. Les résultats de l'analyse de groupe montrent qu'ils sont fondamentalement compatibles avec la classification morphologique.*

### INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus* L.) est l'une des plantes de rapport commercial les plus importantes en sériciculture puisqu'elle permet d'élever les vers à soie (*Bombyx mori* L.). Les mûriers sont un groupe d'arbustes ou de buissons appartenant à la famille des Moraceae, distribués dans les zones tempérées et sub-tropicales de l'hémisphère nord. En Chine, il y a environ 3000 ressources de germoplasmes de mûriers, qui comprennent 15 espèces et 4 variétés (Pan, 2000).

Le mûrier est la base de la production séricicole. L'amélioration du potentiel génétique du mûrier pour augmenter le rendement foliaire et améliorer la qualité de la feuille a été une contribution principale au succès du développement de la sériciculture en Chine. Les objectifs du lignage du mûrier sont d'identifier et de créer une variabilité génétique à assembler dans le génotype productif et d'adapter le génotype à l'environnement approprié. Il est donc important d'évaluer la relation génétique pour l'amélioration du rendement, de la qualité et de la résistance du mûrier à long terme.

Le mûrier est largement distribué géographiquement, s'adapte facilement à des conditions agro-climatiques variées, est facile à régénérer, adapté à des méthodes d'entretien et de taille variées, peut être multiplié sexuellement et de manière asexuée, est facile à produire naturellement et artificiellement comme hybride, ce qui rend le contexte génétique du mûrier assez complexe (Dandin, 1998). De nombreuses approches systématiques du mûrier ont été rapportées. L'analyse morphologique est une des méthodes couramment utilisées chez le mûrier. On a aussi utilisé l'analyse des cariotypes et la cytogénétique, l'analyse des isozymes etc. pour caractériser les germoplasmes et pour étudier les relations taxonomiques. Cependant, on dispose de très peu d'informations sur la caractérisation du mûrier par le séquençage de l'ADN (Zhao et coll., 1999 ; 2002). A l'heure actuelle, on débat beaucoup de la classification du genre *Morus* qui est très arbitraire.

Les récentes avancées de la biologie moléculaire permettent une évaluation rapide et pratique des différences de composition génétique d'individus liés en utilisant les données du séquençage de l'ADN et elles ont été employées chez un grand nombre de plantes pour déterminer les relations

génétiqes. A présent, un certain nombre de gènes appartenant au noyau et au chloroplaste sont largement utilisés dans la systématique du mûrier (Wang et coll., 1997). L'ADN du chloroplaste (ADNcp) a un taux d'évolution lent et est utilisé pour les études phylogénétiques à des niveaux taxonomiques plus élevés (Zurawski et coll., 1984). Plus récemment, on a étendu l'utilisation de plusieurs amorces universelles conçues pour l'amplification de séquences d'ADNcp non codantes (Taberlet et coll., 1991). On a largement utilisé les séquences de l'ADNcp non codantes pour déduire les relations phylogénétiques à des niveaux taxinomiques inférieurs (Olmstead et coll., 1994), parmi plusieurs espèces et aussi à l'intérieur des espèces (Johnston et Soltis, 1994 ; Gielly et Taberlet, 1994 ; Fujii et coll., 1997). Le but de cette étude est d'examiner les relations phylogénétiques du genre *Morus* d'après l'analyse des séquences du segment intergénique (IGS) de l'ADNcp trnL (UAA)-trnF.

## MATERIELS ET METHODES

### Matériels :

Nous avons utilisé vingt trois individus représentant 12 espèces et 3 variétés du genre *Morus* et un individu de *Broussonetia papyrifera* désigné comme espèce hors groupe. Tous les spécimens de mûrier sont déposés à la National Mulberry GenBank du *Sericultural Research Institute*, de la *Chinese Academy of Agricultural Sciences* (CAAS), à Zhenjiang, province de Jiangsu, en Chine. Les séquences de six autres espèces utilisées comme hors groupe sont citées d'après GenBank (Tableau 1).

### Méthodes :

#### Extraction de l'ADN :

On extrait l'ADN génomique total à partir de 2 g de feuilles de mûrier fraîches en utilisant le protocole modifié de Doyle et Doyle (Doyle, 1987).

#### Amplification PCR :

On réalise l'amplification PCR dans un volume de 50 µl contenant 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de chaque dNTP, 5 pM de chaque amorce et 1.5 U de l'ADN polymérase Taq (Takara Bio Inc.). On utilise un tampon 10 × PCR (100 mM de Tris-HCl au pH de 8.3, 500 mM de KCl, gélatine à 0,01 %), approximativement 25 ng de matrice d'ADN. L'espace du segment intercalaire trnL-trnF est amplifié avec les amorces " e " (5'-AAAATCGTAGGGTTCAAGTC-3' et " f " (5'-GATTTGAACTGGTGACACGAG-3') (Taberlet et coll., 1991). On procède à la réaction d'amplification avec les profils de cycles thermiques suivants : 1 cycle pendant 10 minutes à 95° C, puis 38 eyeles de 30s à 95° C, de 30s à 55° C, de 90s à 72° C, suivis par une finale de 7 min. à 72° C.

#### Purification et séquençage du produit PCR :

Le produit PCR est purifié grâce au protocole suivant :

On fait passer le produit PCR par un gel d'agarose à 1 % dans un tampon 1 × TBE à 70-100 V. On retranche la bande d'amplification du gel d'agarose avec une lame de rasoir stérile. On incube la bande retranchée avec 500-600 µl de solution d'iodure de sodium (NaI) (6 M) dans un bain marie à 55° C pour fondre le gel. On ajoute approximativement 10 µl de suspension GLASSMILK et on l'incube à température ambiante pendant 5 minutes. On mélange la solution avec du GLASSMILK par inversion toutes les 1 à 2 minutes pour s'assurer du maintien en suspension. Après 5 minutes, on centrifuge le GLASSMILK dans une micro-centrifugeuse pendant quelques secondes. La solution surnageante de NaI est retirée et on lave le culot GLASSMILK trois fois avec 500 à 600 µl de solution NEW WASH (10 mM de Tris-HCL, 0,5 mM d'EDTA, 50 mM de NaCl, de l'éthanol à 50 %). Après l'avoir lavé, on sèche le culot pendant 5 minutes. On resuspend le culot avec 20 µl de ddH<sub>2</sub>O stérile et on l'incube dans un bain-marie à 55° C pendant 3 minutes. Puis on centrifuge le culot dans une microcentrifugeuse pendant quelques secondes et on transfère le surnageant contenant le fragment d'ADN élué dans un nouveau tube. Le produit PCR purifié est séquencé avec un séquenceur ADN



ABI 373 automatisé en utilisant un Kit de Réaction de Séquençage de Cycle Termineur à colorant (PE Applied Bio-systems).

#### Analyse des données :

On réalise les alignements de séquence en utilisant Clustal X, version 1.81 (Thompson et coll., 1997) puis on les ajuste manuellement, là où nécessaire. On enregistre les mutations d'insertion / de délétion (indels) d'alignement ambiguë comme des caractères séparés joints dans la matrice. Les données des matrices sont disponibles sur demande auprès des auteurs. On construit l'arborescence phylogénétique d'après la Méthode de Probabilité Maximum (DNAML), logiciel PHYLIP version 3.573c. On évalue l'arborescence phylogénétique avec un test d'amorçage de 1000 échantillons (Felsenstein, 1985).

## RESULTATS ET DISCUSSION

La largeur des séquences de la zone du segment intergénique déterminées dans cette étude varie de 318 à 412 bp. La composition moyenne en nucléotides est de 0,2932 (A) 0,3404 (T) 0,1807 (C) 0,1857 (G). La teneur moyenne G + C est de 0,3664 % ce qui indique que les séquences de la zone du segment intercalaire sont riches en AT. Le ratio transition : transversion de la zone du segment intercalaire est de 1,653. Après l'alignement, il y a 438 positions de bases dans la matrice des données trnL-trnF, dont 236 sites nucléotidiques sont variables et 108 sont peu informatifs.

On procède à l'analyse phylogénétique moléculaire en utilisant les données de séquences de chaque région avec *B. papyrifera* comme espèce hors groupe. On obtient une arborescence consensuelle stricte avec la méthode de la Probabilité Maximum (DNAML) (Fig. 1). Le regroupement montre que *Physocarpus capitatus* et *Prunus virginiana* sont du groupe parent de la famille Rosebush et *Carduus nutans* et *Crepis tectorum* sont du groupe parent de la famille du clade Compositae. Le genre *Morus* est étroitement lié à *Artocarpus heterophyllus* et *B. papyrifera* à *Ficus pretoriae* lesquels forment tous un groupe parent de la famille des Moraceae. Les résultats indiquent qu'ils ont une affinité plus étroite avec le genre *Morus*. Nous avons analysé plus en détail le regroupement de tous les matériels qui appartiennent au genre *Morus*. L'analyse de regroupement montre que toutes les espèces de mûrier se regroupent entre elles, ce qui indique que le genre *Morus* est monophylétique. Les résultats ci-dessus obtenus à partir des données de séquence intragéniques trnL-trn-F du mûrier sont en accord dans l'ensemble avec l'analyse d'Hirano d'après son étude sur les isozymes et les profils de bandes de protéines parmi les différentes espèces de la famille des Moraceae. Par comparaison aux autres espèces de la famille des Moraceae, les espèces qui appartiennent au genre *Morus* ont une homologie plus grande (Hirano, 1982). Dans le clade du genre *Morus*, Gui No. 14 qui appartient à *M. wittorum* est parent avec Yaan No. 4 qui appartient à *M. cathayana* et ils appartiennent tous à Macromorus dans la classification du genre *Morus* (Koidzumi, 1917). Niuersang, Longchuanqiuyu, Naxisang, Wengqiesang et Baoqing No. 5 forment un clade. Deijiang No. 10 forme un clade avec Yunnanshuisnag et ils appartiennent tous à *M. laevigata*. Lijiangshansang et Jianchi, qui appartiennent à *M. bombycis* forment un clade avec Chasang et ils appartiennent tous aux Dolichostylae dans la classification du genre *Morus*. Les résultats de l'analyse de groupe sont dans l'ensemble en accord avec la classification morphologique existante. Cette étude indique aussi que l'analyse phylogénétique en utilisant les données de séquence de la zone du segment intercalaire intergénique trnL-trnF offre une méthode efficace et fiable pour évaluer la relation phylogénétique.

Mais pour résoudre de manière plus définitive les problèmes existant dans la classification du mûrier, il faudrait utiliser dans le futur les résultats d'autres études utilisant des données informatives nucléaires et extra-nucléaires.



## STUDIES ON BIVOLTINE COCOON COOKING (PART I): EFFECT OF COCOON COOKING (SWELLING) TREATMENT AND ADJUSTMENT TREATMENT ON COCOON COOKING DEGREE AND WATER CONTENT IN COCOON SHELL OF INDIAN BIVOLTINE HYBRID COCOONS

SUBHAS V. NAIK\* & T.H. SOMASHEKAR

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B.T.M Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560068, India.

*The influence of temperature and duration of cocoon cooking (swelling) treatment and temperature profile of adjustment treatment on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell has been studied using CSR race bivoltine hybrid cocoons. It is observed that steam cooking temperature and its duration of treatment has a significant influence on both cocoon cooking degree and water content in cocoon shell. Cocoon cooking degree and water content in cocoon shell were found to increase significantly as the steam cooking temperature and duration increased. From the results it is also observed that as the initial temperature of adjustment treatment increases water absorption in the cocoon shell increases.*

**Keywords:** Steam cooking temperature, Adjustment temperature, Cocoon cooking degree, Water content in cocoon shell

### INTRODUCTION

Cocoon cooking is an extremely important process in reeling. Efficient cocoon cooking is carried out using 6 treatments. The amount of water absorption by cocoon and cocoon shell is influenced by these 6 treatments. Steam cooking and adjustment treatments are two important treatments of these 6 treatments of cocoon cooking.

The studies on influence of pre-treatment of cocoon cooking on the moisture content of cocoons have been carried out in Japan (Shimazaki, 1961, 1962). Further, Kinoshita (1982) has studied the influence of effectiveness of pre-treatment of steam cooking with respect to moisture content. From the experimental results, Takabayashi (1985) has reported the standards for bivoltine hybrid cocoons of Japanese origin for cocoon cooking degree and water content in cocoon shell. The cocoon characteristics, particularly sericin characteristics and water characteristics influence the water absorption by cocoon. Therefore, the study of influence of cocoon cooking parameters on water absorption by cocoon and cocoon shell is also essential for Indian cocoons. Hence the study has been carried out to investigate the influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell using recently developed CSR race Indian bivoltine hybrid cocoons.

---

\* Author to whom correspondence may be addressed.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Raw material:

Bivoltine hybrid cocoons of CSR2 × CSR4 race were used for the study.

### 2. Drying conditions:

The cocoons were dried in a batch type hot air drier following a temperature profile of 115°C to 50° C for a period of five hours, achieving around 42 % degree of drying.

### 3. Cocoon cooking:

Cocoon cooking was carried out using CSTR1 batch type Pressurised circular cocoon cooking machine. The temperature and duration used as per the design of experiment is as follows;

#### a) Retting conditions (A):

Temperature	70° C
Duration	1.5 min

#### b) High temperature treatment (steam):

Temperature :	90 °C
Duration :	1.5min

#### c) Low temperature water (permeation) treatment:

Temperature:	75 °C
Duration :	1.75 min

(Note: After low temperature water (permeation) treatment, cocoons were kept above the water level in cooking machine at 75° C steam temperature and water temperature is raised to required initial temperature (94°C / 96°C ) of adjustment treatment within a constant period of 4 minutes before starting the steam cooking treatment).

#### d) Steam cooking :

Temperature :	<b>A1</b> 87°C	<b>A2</b> 92°C	<b>A3</b> 97°C
Duration:	<b>B1</b> 1.0 min.	<b>B2</b> 1.75min.	<b>B3</b> 2.5 min.

#### e) Adjustment treatment:

Initial temperature :	<b>C1</b> 94°C - 93°C - 70°C	<b>C2</b> 96°C - 93°C - 70°C
Duration:	6 minutes	6 minutes

( Initially cocoons were treated for 1 min at 94° C water in case of C1 and at 96° C water in case of C2, and then water temperature was reduced gradually to 93° C and then to 70° C in both cases in 5 minutes by sprinkling the water.)

### 4. Water Quality:

Water having standard characteristics for reeling i. e. 7.1 pH, 70-ppm hardness and 80 ppm Alkalinity was used for the study.

### 5. Cocoon cooking degree:

The water content in the cooked cocoon and cocoon shell were measured in each cooking condition using the following formulae,

Absorption of water in the cocoon (cocoon cooking degree) =

$$\frac{\text{Cooked cocoon weight}}{\text{Dry cocoon weight}}$$

$$\text{Water content in cocoon shell (\%)} = \frac{\text{Cooked shell weight} - \text{Dry shell weight}}{\text{Dry shell weight}} \times 100$$

## 6. Data analysis:

The data collected were statistically analysed.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

From the figures 1 and 2 and Table I it is observed that steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment have significant influence on both cocoon cooking degree and water content in cocoon shell. From the results of analysis of variance (Table II) it can be observed that influence of steam cooking temperature on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell is significant at 1% level, whereas influence of steam cooking duration on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell is significant at 5% and 1% level respectively. Further interaction effect of steam cooking temperature and duration and steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cocoon cooking degree is significant at 5% and 1% level respectively.

From the figures 1 and 2 it is observed that cooking degree and water content in cocoon shell were found to increase as the steam cooking temperature and its duration of treatment increased from 87°C to 97°C and 1 minute to 2.5 minute respectively. From the figures 1 and 2 it can also be observed that 97°C steam cooking temperature, 2.5 minute duration of steam cooking treatment and 96°C – 70°C temperature profile of adjustment treatment have given higher cooking degree and water content in cocoon shell as compared to other conditions. 96°C – 70°C temperature profile of adjustment treatment has given better cooking degree and water content in cocoon shell as compared to 94°C – 70°C temperature profile of adjustment treatment.

From the figures 1 & 2 it is observed that, 87°C steam cooking temperature, 1 minute steam cooking duration and 94°C-70°C temperature profile of adjustment treatment combination has resulted in under cocoon cooking degree and less water absorption in cocoon shell as compared to other conditions. This is due to the fact that after permeation of required quantity of water in cooking pretreatment zone of cocoon cooking, required heat energy is essential in cooking zone to soften the sericin of cocoon filament layers and to remove the air and water out from the cocoons, so that required quantity of water is absorbed in cocoon and cocoon shell in adjustment process of cocoons cooking. But 87°C steam-cooking temperature (with 94°C-70°C temperature profile of adjustment treatment) has not provided required heat energy leading to removal of less quantity of air from the cocoons. Due to this cocoons have absorbed less quantity of water in adjustment zone and hence resulting in lower cocoon cooking degree and less water absorption by cocoon shell.

From the figures 1 & 2 it can also be observed that with same 87°C steam cooking temperature (in case of all the three steam cooking durations) cocoon cooking degree and water content in cocoons shell have increased significantly at 96°C-70°C temperature profile of adjustment treatment as compared to those at 94°C-70°C temperature profile of adjustment treatment. This can be attributed to higher initial temperature of 96°C at initial zone of adjustment treatment.

**Table I. Effect of cooking parameters on cocoon cooking degree and water content in cocoon shell.***Tableau I. Effet des paramètres de cuisson sur le degré de cuisson et la teneur en eau de la coque soyeuse.*

Cooking parameters	Cooking degree	Water content in cocoon shell (%)
<i>Paramètres de cuisson</i>	<i>Degré de cuisson</i>	<i>Teneur en eau de la coque soyeuse (%)</i>
A1B1C1	8.90	401.73
A1B2C1	9.08	451.67
A1B3C1	9.25	465.20
A2B1C1	9.02	433.13
A2B2C1	9.94	466.29
A2B3C1	10.21	477.63
A3B1C1	9.83	469.06
A3B2C1	9.96	485.30
A3B3C1	10.66	511.12
A1B1C2	10.05	462.42
A1B2C2	10.22	488.25
A1B3C2	10.30	509.91
A2B1C2	10.27	464.15
A2B2C2	10.48	510.49
A2B3C2	10.64	513.08
A3B1C2	10.62	541.31
A3B2C2	10.65	543.55
A3B3C2	10.82	554.27
CD(P < 0.05) for		
A	0.340	35.695
B	0.340	35.695
C	0.278	29.145
A x B	0.589	61.826
A x C	0.481	50.481
B x C	0.481	50.481

A — Steam cooking temperature / *A - Température de cuisson à la vapeur.* (A1= 87°C, A2 = 92°C, A3 = 97°C)B — Steam cooking duration / *B - Durée de cuisson à la vapeur.* (B1 = 1.0 Min, B2 = 1.75 Min, B3 = 2.5 Min.)C — Temperature profile of adjustment treatment, / *C - Profil de température du traitement d'ajustement.* ( C1 = 94°C - 93°C - 70°C, C2 = 96°C - 93°C - 70°C)



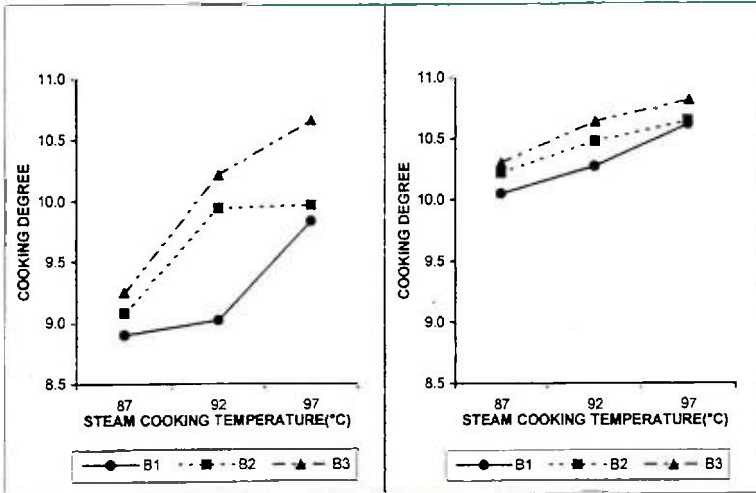
**Table II. Analysis of variance of results of cocoon cooking degree and water content in cocoon shell.***Tableau II. Analyse de variance pour les résultats du degré de cuisson du cocon et de la teneur en eau dans la coque soyeuse.*

Factors	Mean sum of squares		
	Degree of freedom	Cooking degree	Water content in cocoon shell (%)
<i>Facteurs</i>	<i>Moyenne de la somme des carrés</i>		
	<i>Degré de liberté</i>	<i>Degré de cuisson</i>	<i>Teneur en eau de la coque soyeuse (%)</i>
A	2	7.502**	270824.070**
B	2	2.849*	59554.711**
C	1	0.145 <sup>NS</sup>	10881.889 <sup>NS</sup>
A x B	4	3.955**	10449.086 <sup>NS</sup>
A x C	2	2.389 <sup>NS</sup>	3213.104 <sup>NS</sup>
B x C	2	17.980**	15405.559 <sup>NS</sup>
A x B x C	4	0.877 <sup>NS</sup>	3121.943 <sup>NS</sup>
Replication / Répétition	9	2.109	24618.259
Error / Variation	153	0.890	9793.860

\*\* Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %.*\* Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %.* NS: Non significant / *Non significatif.*A - Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur.*B - Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur.*C - Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement.*

It is to be noted that in order to achieve good cooking, water is made to penetrate from outside to inside the cocoons and inside to outside and then finally from outside to inside the cocoons in sequence. If any cycle is missing water absorption and uniformity in water absorption by cocoon shell will get affected which in turn affect the reeling performance and raw silk quality characteristics.

Higher cooking degree and water content in cocoon shell at 97° C steam cooking temperature (with all the three durations of steam cooking) and 96°C -70°C temperature profile of adjustment treatment can be attributed to availability of more heat energy at cooking zone and initial adjustment zone due to higher temperatures used. These higher temperatures have expelled more air out of the cocoons in steam cooking and initial temperature zone of adjustment treatment leading to more water absorption by cocoon and cocoon shell in adjustment zone of cocoon cooking.



**Fig. 1.** Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cocoon cooking degree.

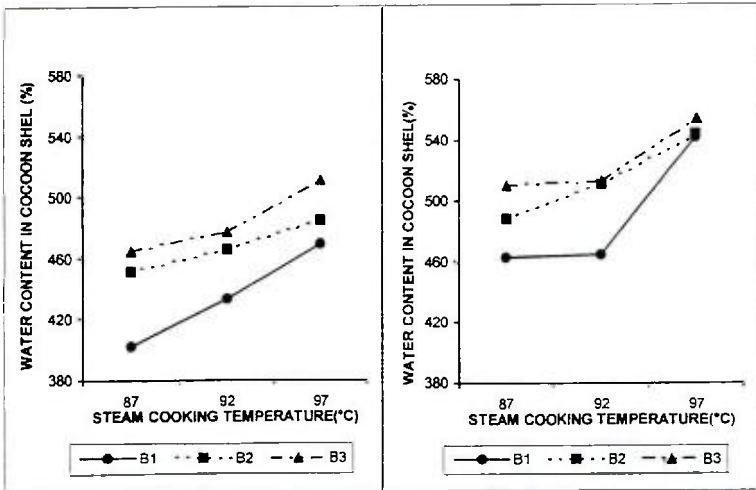
*Fig. 1.* Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur le degré de cuisson du cocon.

**B1** – 1 min steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 1 min.

**B2** – 1.75 min steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 1,75 min.

**B3** – 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min.

**94°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
**B1** - 1.0 min. steam cooking duration    **B2** - 1.75 min. steam cooking duration  
**B3** - 2.5 min. steam cooking duration



**Fig. 2.** Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on water content in cocoon shell.

*Fig. 2.* Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la teneur en eau de la coque soyeuse.

**B1** – 1 min steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 1 min.

**B2** – 1.75 min steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 1,75 min.

**B3** – 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min.

**94°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
**B1** - 1.0 min. steam cooking duration    **B2** - 1.75 min. steam cooking duration  
**B3** - 2.5 min. steam cooking duration

It is to be noted that temperature difference between steam cooking temperature and initial temperature of adjustment treatment is very important and it is depending on cocoon quality and compactness of cocoons. If this temperature difference is higher, there is a higher occurrence of crushing of cocoons particularly in case of cocoons having less compactness. Crushed cocoons affect both reeling and quality characteristics. Results of cooking degree and water content in cocoon shell indicate that CSR race bivoltine hybrid cocoons are capable of withstanding 4 °C difference between steam cooking temperature and initial temperature of adjustment treatment.

## CONCLUSION

Temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment play a significant role on the cocoon cooking condition. In order to achieve required cocoon cooking degree and water content in cocoon shell, in case of CSR race bivoltine hybrid cocoons it is essential to use higher steam cooking temperature of 97° C and 96° C-70° C temperature profile of adjustment treatment. Duration of these treatments has to be selected depending upon the cocoon quality, targeted raw silk yield and raw silk quality.

## REFERENCES

- KINOSHITA. H., SUGANUMA. Y., WATASE. H (1982): Effectiveness of pre treatment on steam cooking with respect to moisture content, Part I, Bull Nagano Pref. Textile Research Institute 10, 32-35.
- KINOSHITA. H., SUGANUMA. Y., WATASE. H. (1982): Effectiveness of pretreatment on steam cooking with respect to moisture content. Part II. J. Silk Sci. Tech. Japan, 32, 10-12.
- SHIMAZAKI. A., SEKIJIMA. M. (1961) Studies on pretreatment of cocoon cooking. Part I. J. Silk Si. Tech. Japan , 11, 1-8.
- SHIMAZAKI. A., YAMAMOTO A. (1962) Studies on pretreatment of cocoon cooking, Part-II, J. Silk Sci. Tech, Japan, 12, 4-7.
- TAKABAYASHI C. (1985) Studies on the measurement and control of the state of cooked cocoons in the filature process. Bull. Sericulture Exp. Sta. Tsukuba, 29(5), 563-615.

**ETUDES SUR LA CUISSON DE COCONS BIVOLTINS  
PREMIERE PARTIE : EFFET DU TRAITEMENT DE CUISSON  
DU COCON (GONFLEMENT) ET DU TRAITEMENT  
D'AJUSTEMENT SUR LE DEGRE DE CUISSON DU COCON  
ET LA TENEUR EN EAU DANS LA COQUE SOYEUSE DE  
COCONS HYBRIDES BIVOLTINS INDIENS**

**SUBHAS V. NAIK\* & T. H. SOMASHEKAR**

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B. T. M. Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560 068, Inde.

*Nous avons étudié l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson du cocon (gonflement) et du profil de température du traitement d'ajustement sur le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau dans la coque soyeuse en utilisant les cocons hybrides bivoltins de la race CSR. On observe que la température de cuisson à la vapeur et la durée du traitement ont une influence significative à la fois sur le degré de cuisson du cocon et sur la teneur en eau de la coque soyeuse. Le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau de la coque soyeuse augmentent beaucoup alors que la température et la durée de cuisson à la vapeur augmentent. D'après les résultats, on observe aussi qu'alors que la température initiale du traitement d'ajustement augmente l'absorption de l'eau dans la coque soyeuse augmente.*

**INTRODUCTION**

La cuisson du cocon est un processus extrêmement important du dévidage. On procède à une cuisson efficace du cocon en utilisant 6 traitements. La quantité d'eau absorbée par le cocon et la coque soyeuse est influencée par ces 6 traitements. La cuisson à la vapeur et les traitements d'ajustement sont deux étapes importantes de ces six traitements de cuisson du cocon.

Des études ont été entreprises au Japon sur l'influence du pre-traitement de cuisson du cocon sur la teneur en humidité des cocons (Shimazaki, 1961, 1962). De plus, Kinoshita (1982) a étudié l'influence de l'efficacité du pre-traitement de cuisson à la vapeur par rapport à la teneur en eau. D'après les résultats expérimentaux, Takabayashi (1985) a défini les normes concernant le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau de la coque soyeuse chez les cocons hybrides bivoltins d'origine japonaise. Les caractéristiques du cocon, en particulier les caractéristiques de la séricine et les caractéristiques de l'eau influencent l'absorption de l'eau par le cocon. L'étude de l'influence des paramètres de cuisson du cocon sur l'absorption de l'eau par le cocon et la coque soyeuse est aussi essentielle pour les cocons indiens. Nous avons donc entrepris une étude pour observer l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de la cuisson du cocon sur le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau de la coque soyeuse en utilisant des cocons hybrides bivoltins indiens de la race CSR.

\* Auteur auquel adresser la correspondance.



## MATERIELS ET METHODES

### 1. Matière première :

Nous utilisons des cocons hybrides bivoltins de la race CSR2 × CSR4 pour l'étude.

### 2. Conditions de séchage :

Les cocons sont séchés dans un séchoir à air chaud en série en suivant un profil de température de 115° C à 50° C pendant une période de cinq heures, pour atteindre un degré de séchage d'environ 42 %.

### 3. Cuisson du cocon :

On procède à la cuisson du cocon en utilisant une machine pressurisée circulaire de cuisson des cocons en série du CSTRI. La température et la durée utilisées d'après la conception de l'expérience sont les suivantes :

#### a) Conditions de rouissage (A) :

Température : 70° C  
Durée : 1,5 min.

#### b) Traitement à haute température (vapeur) :

Température : 90° C  
Durée : 1,5 min.

#### c) Traitement à l'eau à basse température (imprégnation) :

Température : 75° C  
Durée : 1,75 min.

(Note : Après le traitement de l'eau à basse température (imprégnation), on conserve les cocons au-dessus du niveau de l'eau dans une machine de cuisson à la vapeur à une température de 75° C et on augmente la température de l'eau à la température nécessaire initiale (94° C / 96° C) du traitement d'ajustement pendant une période constante de 4 minutes avant de commencer la cuisson à la vapeur).

#### d) Cuisson à la vapeur :

	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
Température :	87° C	92° C	97° C
Durée :	<b>B1</b> 1 min.	<b>B2</b> 1,75 min.	<b>B3</b> 2,5 min.

#### e) Traitement d'ajustement :

	<b>C1</b>	<b>C2</b>
Température initiale :	94° C – 93° C – 70° C	96° C – 93° C – 70° C
Durée :	6 minutes	6 minutes

(Au début, les cocons sont traités pendant 1 min. dans de l'eau à 94° C dans le cas de C1 et dans de l'eau à 96° C dans le cas de C2, puis on diminue la température de l'eau progressivement à 93° C et puis à 70° C dans les deux cas pendant 5 minutes en vaporisant de l'eau).

### 4. Qualité de l'eau :

On utilise une eau ayant les caractéristiques habituelles pour le dévidage, c'est à dire un pH de 7,1, une dureté de 70 ppm et une alcalinité de 80 ppm.

### 5. Degré de cuisson du cocon :

Nous mesurons la teneur en eau dans le cocon cuit et la coque soyeuse dans chaque condition de cuisson en utilisant la formule suivante :

Absorption de l'eau dans le cocon (degré de cuisson du cocon) =

$$\frac{\text{Poids du cocon cuit}}{\text{Poids du cocon sec}}$$

Teneur en eau dans la coque soyeuse (%) =

$$\frac{\text{Poids de la coque cuite} - \text{Poids de la coque sèche}}{\text{Poids de la coque sèche}} \times 100$$

### 6. Analyse des données :

Les données recueillies sont analysées de manière statistique.

## RESULTATS ET DISCUSSION

D'après les figures 1 et 2 et le Tableau I, on observe que la température de cuisson à la vapeur, la durée de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative à la fois sur le degré de cuisson du cocon et sur la teneur en eau de la coque soyeuse. D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II), on peut observer que l'influence de la température de cuisson à la vapeur sur le degré de cuisson du cocon et sur la teneur en eau de la coque soyeuse est significative au seuil de 1 % tandis que l'influence de la durée de cuisson à la vapeur sur le degré de cuisson du cocon et sur la teneur en eau dans la coque soyeuse est significative respectivement aux seuils de 5 % et de 1 %. De plus, l'effet de l'interaction entre la température et la durée de cuisson à la vapeur et entre la durée de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement sur le degré de cuisson du cocon est significatif respectivement aux seuils de 5 % et de 1 %.

D'après les figures 1 et 2, on observe que le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau dans la coque soyeuse augmentent alors que la température de cuisson à la vapeur et la durée du traitement augmentent de 87° C à 97° C et respectivement de 1 minute à 2,5 minutes. D'après les figures 1 et 2, on peut aussi observer que la température de cuisson à la vapeur de 97° C, une durée du traitement de cuisson à la vapeur de 2,5 minutes et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C donnent un degré de cuisson et une teneur en eau plus élevés dans la coque soyeuse par comparaison aux autres conditions. Un profil de température de 96° C – 70° C du traitement d'ajustement donne un degré de cuisson et une teneur en eau dans la coque soyeuse meilleurs par comparaison à un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C.

D'après les figures 1 & 2, on observe qu'une combinaison de température de cuisson à 87° C, de durée de cuisson à la vapeur de 1 minute et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C entraîne un manque de cuisson du cocon et une absorption de l'eau inférieure dans la coque soyeuse par comparaison aux autres conditions. Cela est dû au fait qu'après la pénétration de la quantité d'eau nécessaire dans la zone de pre-traitement de cuisson du cocon, l'énergie calorifique requise est essentielle dans la zone de cuisson pour ramollir la séricine dans les couches du cocon et retirer l'air et l'eau dans les cocons, afin que la quantité d'eau nécessaire soit absorbée dans le cocon et la coque soyeuse pendant le processus d'ajustement de cuisson des cocons. Mais la température de cuisson à la vapeur de 87° C (avec un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C) ne fournit pas la quantité d'énergie requise, ce qui entraîne un retrait d'une quantité moins importante d'air dans les cocons. En raison de cela, les cocons absorbent une quantité d'eau moins

70° C) ne fournit pas la quantité d'énergie requise, ce qui entraîne un retrait d'une quantité moins importante d'air dans les cocons. En raison de cela, les cocons absorbent une quantité d'eau moins importante dans la zone d'ajustement, ce qui donne un degré de cuisson du cocon inférieur et une absorption inférieure par la coque soyeuse.

D'après les figures 1 et 2, on peut aussi observer qu'avec la même température de cuisson à la vapeur de 87° C (dans le cas des trois durées de cuisson à la vapeur), le degré de cuisson du cocon et la teneur en eau dans la coque soyeuse augmentent considérablement avec un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C par comparaison à ceux obtenus avec un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C - 70° C. Cela peut être attribué à une température initiale plus élevée de 96° C pendant la période initiale du traitement d'ajustement de la zone initiale.

On doit noter que pour obtenir une bonne cuisson, on fait pénétrer successivement de l'eau de l'extérieur à l'intérieur des cocons et de l'intérieur à l'extérieur et finalement de l'extérieur à l'intérieur des cocons. S'il manque un cycle, l'absorption de l'eau et l'uniformité de l'absorption par la coque soyeuse sont affectées, ce qui a un effet sur la performance de dévidage et sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège.

Le degré de cuisson et la teneur en eau plus élevés dans la coque soyeuse avec une température de cuisson à la vapeur de 97° C (avec les trois durées de cuisson à la vapeur) et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C peuvent être attribués à la disponibilité d'une plus grande énergie calorifique dans la zone de cuisson et dans la zone d'ajustement initiale en raison des températures plus élevées utilisées. Ces températures plus élevées ont permis d'expulser plus d'air des cocons pendant la cuisson à la vapeur et dans la zone de température initiale du traitement d'ajustement ce qui entraîne une absorption d'eau plus importante par le cocon et la coque soyeuse dans la zone d'ajustement de cuisson du cocon.

On doit noter que la différence de température entre la température de cuisson à la vapeur et la température initiale du traitement d'ajustement est très importante et elle dépend de la qualité du cocon et de la densité des cocons. Si cette différence de température est plus élevée, les cocons sont plus écrasés et plus particulièrement les cocons moins denses. L'écrasement des cocons a un effet à la fois sur les caractéristiques de dévidage et de qualité. Les résultats sur le degré de cuisson et la teneur en eau de la coque soyeuse indiquent que les cocons hybrides bivoltins de la race CSR sont capables de supporter une différence de 4° C entre la température de cuisson à la vapeur et la température initiale du traitement d'ajustement.

## CONCLUSION

La température et la durée du traitement de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement jouent un rôle significatif sur les conditions de cuisson du cocon. Pour atteindre le degré de cuisson des cocons et la teneur en eau requis dans la coque soyeuse avec des cocons hybrides bivoltins de la race CSR, il est essentiel d'utiliser une température de cuisson à la vapeur plus élevée de 97° C et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C. Il faut sélectionner la durée de ces traitements en fonction de la qualité du cocon et du rendement et de la qualité de soie grège souhaités.

## STUDIES ON BIVOLTINE COCOON COOKING (PART II): EFFECT OF COCOON COOKING (SWELLING) TREATMENT AND ADJUSTMENT TREATMENT ON REELING PERFORMANCE OF INDIAN BIVOLTINE HYBRID COCOONS

SUBHAS V. NAIK\* & T.H. SOMASHEKAR

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B.T.M Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560068, India.

*The influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on reeling characteristics has been studied using CSR race bivoltine hybrid cocoons. It is observed that all the three factors i. e., steam cooking temperature and duration, and temperature profile of adjustment treatment have a significant influence on reelability, non-broken filament length, raw silk recovery, waste % and raw silk %. From the results it is observed that steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment play a dominant role on reelability, whereas interaction effect of steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment, steam cooking temperature and steam cooking duration have more influence on raw silk recovery, raw silk % and waste %.*

*From the results it is observed that low cooking temperatures of 87°C and 92°C and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have resulted in under cooking of cocoons and thereby affected reeling characteristics. Whereas higher steam cooking temperature of 97°C with shorter cooking duration of 1 min have resulted in better reeling performance and this may be attributed to cooking of cocoons to the required level.*

**Keywords:** Steam cooking temperature, Steam cooking duration, Adjustment temperature, Reelability, Raw silk %.

### INTRODUCTION

Cocoon cooking is an important process in silk reeling, which has a decisive role on reeling performance. Efficient cooking involves six treatments. Steam cooking treatment and adjustment treatment are two important treatments of these 6 treatments of cocoon cooking. A series of studies have been conducted in Japan (Kinoshita 1979, 1981; Shimazaki 1961, 1962; Takabayashi, 1985) with respect to influence of cocoon cooking parameters on reeling characteristics. These studies have been conducted with cocoons of their origin. Since the cocoon cooking parameters depend basically on factors such as cocoon characteristics and water quality, studies of this type are also essential for Indian CSR race bivoltine hybrid cocoons. Published literature in this regard is scanty. Therefore the present study has been conducted using pressurized circular cocoon cooking machine (developed by Central Silk Technological Research Institute, CSB, Bangalore, India) to investigate the influence of

---

\* Author to whom correspondence may be addressed.



temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on reeling performance of CSR race (Indian) bivoltine hybrid cocoons.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Raw material:

Bivoltine hybrid cocoons of CSR2 × CSR4 race were used for the study.

### 2. Drying conditions:

The cocoons were dried in a batch type hot air drier following a temperature profile of 115°C to 50°C for a period of five hours, achieving around 42% degree of drying.

### 3. Cocoon cooking:

Cocoon cooking was carried out using CSTRI batch type Pressurised circular cocoon cooking machine. The temperature and duration used as per the design of experiment is as follows;

#### a) Retting conditions:

Temperature: 70 °C  
Duration: 1.5 min

#### b) High temperature (steam) treatment:

Temperature: 90 °C  
Duration: 1.5min

#### c) Low temperature water (permeation) treatment:

Temperature: 75 °C  
Duration: 1.75 min

(Note: After low temperature water (permeation) treatment, cocoons were kept above the water level in cooking machine at 75°C steam temperature and water temperature is raised to required initial temperature ( 94°C / 96°C ) of adjustment treatment within a constant period of 4 minutes before starting the steam cooking treatment).

#### d) Steam cooking:

Temperature:	<b>A1</b> 87°C	<b>A2</b> 92°C	<b>A3</b> 97°C
Duration:	<b>B1</b> 1.0 min.	<b>B2</b> 1.75min.	<b>B3</b> 2.5 min.

#### e) Adjustment treatment:

	<b>C1</b>	<b>C2</b>
Initial temperature:	94°C - 93°C - 70°C	96°C - 93°C - 70°C
Duration:	6 minutes	6 minutes

(Initially cocoons were treated for 1min at 94°C water in case of C1 and at 96°C water in case of C2, and then water temperature was reduced gradually to 93°C and then to 70°C in both cases in 5 minutes by sprinkling the water).

### 4. Brushing:

Cooked cocoons were brushed at 80°C hot water.

**5. Reeling conditions:**

The cocoons were reeled on CSTR I Multiend reeling machine with following parameters:

Reeling speed :	100 mtrs/ min
Croissance length :	8 cms
Basin water temperature:	40°C

**6. Water Quality :**

Water having standard characteristics for reeling i. e., 7.1 pH, 70-ppm hardness and 80 ppm Alkalinity was used for the study.

Reeling characteristics i.e. reelability, non broken filament length, raw silk recovery, waste% on silk weight and raw silk % were calculated from the reeling results obtained during reeling of different combinations as per the design of experiment.

**7. Data analysis:**

The data collected were statistically analysed.

**RESULTS AND DISCUSSIONS****1. Reelability and non-broken filament length:**

Average results of influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment on reeling performance are given in Table I. The results of the analysis of variance and contribution ratio are given in Tables II and III.

From Table I and figures 1 and 2 it is observed that as the steam cooking temperature increases from 87°C to 97°C reelability and non broken filament length increases significantly. Reelability and non-broken filament length were also found to increase as the steam cooking duration increases from 1 min to 2.5min.

Further it can be seen that (from figure 1) 96°C -70°C temperature profile of adjustment treatment has given significantly better reelability as compared to 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment. Better reelability and non-broken filament length at 97°C steam cooking temperature and 1.75 min and 2.5 min steam cooking duration and 96°C -70°C temperature profile of adjustment treatment can be attributed to higher cocoon cooking degree and hence higher degree of swelling and softening of sericin of the cocoon filament layers of the cocoon shell. From the analysis of variance results (Table II) it can be observed that influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on reelability and non-broken filament length is statistically significant at 1% level. From Table I (CD values) it can also be observed that differences in reelability and non-broken filament length between 87°C and 92°C; 87°C and 97°C; 92°C and 97°C steam cooking temperatures and between 1 minute and 1.75 minute, 1 minute and 2.5 minutes; 1.75 minute and 2.5 minutes steam cooking durations are significant at 1% level.

Significant reduction in reelability and hence in non-broken filament length at 87°C and 92°C steam cooking temperatures, 1 to 1.75 minute steam cooking durations and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment (fig.1 & 2) is attributed to under cooking of cocoons. It is to be noted that swelling and softening of the sericin is caused by interaction of heat, the amount of water absorbed by the cocoon layer and the properties of water. After the impregnation of suitable quantity of water in the cocoon and cocoon shell in pretreatment zone of cocoon cooking, required heat energy is very essential at cooking zone to cook the cocoons shell layers uniformly, otherwise cooking will result in under/uneven cooking. 87°C and 92°C steam cooking temperatures, 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have not given the required heat energy to cook the cocoons and hence resulted in under cooking of cocoons.

**Table I. Effect of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of ajustement treatment of cocoon cooking on reeling characteristics (mean values).***Tableau I. Effet de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de cuisson du cocon sur les caractéristiques de dévidage (valeurs moyennes).*

Cooking parameters	Reelability (%)	Non broken filament length (m)	Raw silk (%)	Raw silk recovery (%)	Waste % on silk weight	Single Pelade weight (g)
<i>Paramètres de cuisson</i>	<i>Dévidabilité (%)</i>	<i>Longueur de la bave sans rupture (m)</i>	<i>Soie grège (%)</i>	<i>Récupération de soie grège (%)</i>	<i>% de déchets par rapport au poids de la soie</i>	<i>Poids d'une pélette (g)</i>
A1B1C1	66.85	695	17.30	73.75	11.21	0.0260
A1B2C1	67.90	720	17.47	74.47	10.16	0.0245
A1B3C1	70.75	755	17.56	74.83	9.72	0.0240
A2B1C1	68.20	731	17.66	75.26	10.85	0.0230
A2B2C1	70.10	754	17.76	75.69	9.84	0.0210
A2B3C1	72.10	779	17.79	75.84	9.41	0.0205
A3B1C1	70.75	802	18.98	80.90	8.69	0.0200
A3B2C1	73.15	796	18.08	77.07	9.44	0.0200
A3B3C1	75.95	798	17.12	72.95	12.31	0.0190
A1B1C2	72.95	744	17.97	76.60	9.57	0.0210
A1B2C2	76.05	793	17.99	76.69	8.34	0.0200
A1B3C2	78.95	843	18.08	77.07	8.10	0.0200
A2B1C2	79.75	814	17.42	74.26	10.44	0.0195
A2B2C2	82.35	850	17.48	74.49	9.32	0.0195
A2B3C2	84.00	876	17.75	75.66	8.96	0.0195
A3B1C2	85.30	882	17.36	73.98	9.64	0.0180
A3B2C2	86.80	887	17.08	72.78	10.99	0.0170
A3B3C2	88.15	884	16.46	70.17	13.70	0.0160
CD (P <= 0.05) for						
A	0.51	7	0.11	0.45	0.23	0.0003
B	0.51	7	0.11	0.45	0.23	0.0003
C	0.42	6	0.09	0.36	0.18	0.0003
A × B	0.88	12	0.18	0.77	0.39	0.0006
A × C	0.72	10	0.15	0.63	0.32	0.0005
B × C	0.72	10	0.15	0.63	0.32	0.0005
A × B × C	1.25	17	0.26	1.09	0.55	0.0008

A - Steam cooking temperature / *A* - Température de cuisson à la vapeur (A1 = 87° C, A2 = 92° C, A3 = 97° C)B - Steam cooking duration / *B* - Durée de cuisson à la vapeur (B1 = 1 min, B2 = 1.75 Min, B3 = 2.5 Min.)C - Temperature profile of ajustement treatment / *C* - Profil de température du traitement d'ajustement. (C1 = 94° C - 93° C - 70° C, C2 = 96° C - 93° C - 70° C).

Table II. Analysis of Variance of Reeling performance results of Pressurised cooking of Bivoltine hybrid cocoons.

Tableau II. Analyse de variance pour les résultats de la performance de dévidage de cocons hybrides bivoltins cuits sous pression.

Factors	Degree of freedom	Mean sum of squares					
		Reclability	Nonbroken filament length	Raw silk percentage	Raw silk recovery	Waste % on silk weight	Pelade weight (20 no.)
<i>Somme moyenne des carrés</i>							
Facteurs	Degré de liberté	Dévidabilité	Longueur de la buve sans rupture	Pourcentage de soie grège	Récupération de soie grège	% de déchets par rapport au poids de la soie	Poids de la pélette (20 no.)
A	2	181.360**	20836.694**	0.143**	2.597**	5.402**	0.00005419**
B	2	56.795**	5963.194**	0.312**	5.679**	1.405**	0.00000619**
C	1	1079.123**	61669.444**	0.502**	9.110**	0.737**	0.00008403**
A × B	4	0.396 <sup>NS</sup>	1720.319**	0.847**	15.395**	9.494**	0.00000024 <sup>NS</sup>
A × C	2	28.881**	383.361*	2.089**	37.930**	6.774**	0.00000503**
B × C	2	0.361 <sup>NS</sup>	342.028*	0.088*	1.585*	0.017 <sup>NS</sup>	0.00000053**
A × B × C	4	1.302*	76.319 <sup>NS</sup>	0.089**	1.610**	0.047 <sup>NS</sup>	0.0000009**
Replication / Répétition	1	2.007	441.000	0.038	0.692	1.023	0.00000003
Error / Ecart	17	0.348	63.882	0.015	0.268	0.068	0.00000015

\*\* Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*. \* Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*. NS - Non significant / *Non significatif*.

A — Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur*, B - Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur*, C - Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement*.



**Table III. Contribution ratio (%) analysis of cocoon cooking parameters on reeling characteristics.***Tableau III. Analyse du taux de contribution (%) des paramètres de cuisson du cocon sur les caractéristiques de dévidage.*

Cooking parameters	Contribution ratio (%) of cooking parameters					
	Reelability	Non-broken filament length	Raw silk recovery	Raw silk %	Waste % on silk weight	Pelade weight
<i>Paramètres de cuisson</i>	<i>Taux de contribution (%) des paramètres de cuisson (%)</i>					
	<i>Dévidabilité</i>	<i>Longueur de la bave sans rupture</i>	<i>Récupération de soie grège</i>	<i>% de soie grège</i>	<i>% de déchets par rapport au poids de la soie</i>	<i>Poids de la pélette</i>
A	22.23	33.12	2.62	2.61	15.63	48.48
B	6.93	9.41	6.08	6.08	3.92	5.43
C	66.24	49.11	4.97	4.97		37.62
A × B		5.38	34.00	34.00	55.23	
A × C	3.50	0.51	42.33	42.34	19.65	4.38
B × C		0.44	1.48	1.49		
A × B × C			3.02	3.02		1.36

A - Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur.*B - Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur.*C - Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement.**(Note: Only significant values of contributing factors are given in table / Seules les valeurs significatives des facteurs de contribution sont données dans le Tableau).*

Further from the contribution ratio analysis results (Table III) it is observed that steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment play a dominant role on reelability. Results clearly indicate that higher steam cooking temperature and required steam cooking duration and higher initial temperature of adjustment treatment are essential for achieving required swelling and softening of sericin and hence better reelability and non broken filament length of cocoons.

## 2. Raw silk recovery, raw silk percentage, waste percentage and pelade waste:

From the analysis of variance in Table II it can be observed that influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on raw silk recovery, waste %, pelade waste and raw silk % is statistically significant at 1% level.

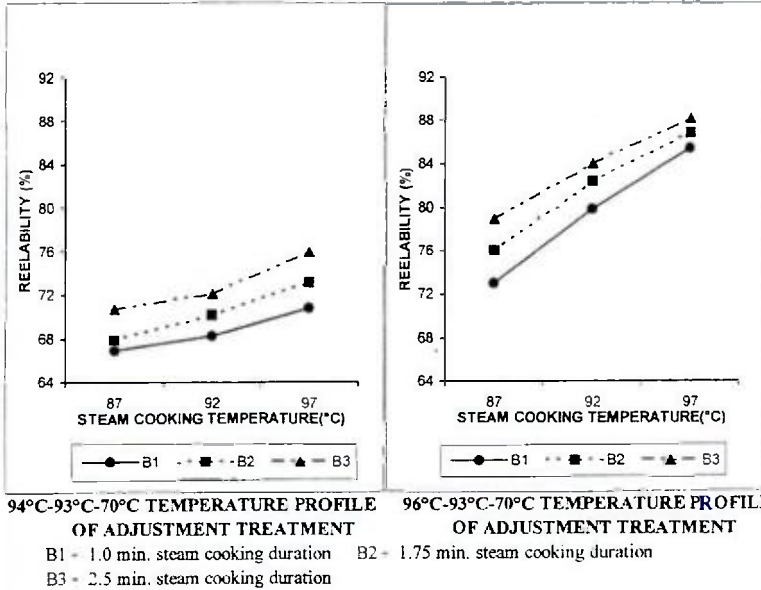


Fig. 1. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on reelability of cocoons.

Fig. 1. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la dévidabilité des cocons.

B1 - 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 - 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 - 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2.5 min.

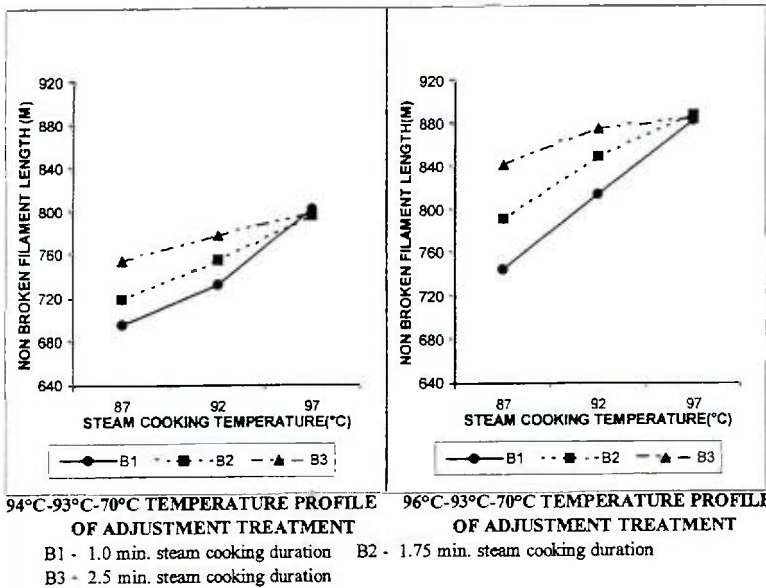


Fig. 2. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on non-broken filament length.

Fig. 2. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la longueur du filament sans rupture.

B1 - 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 - 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 - 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2.5 min.

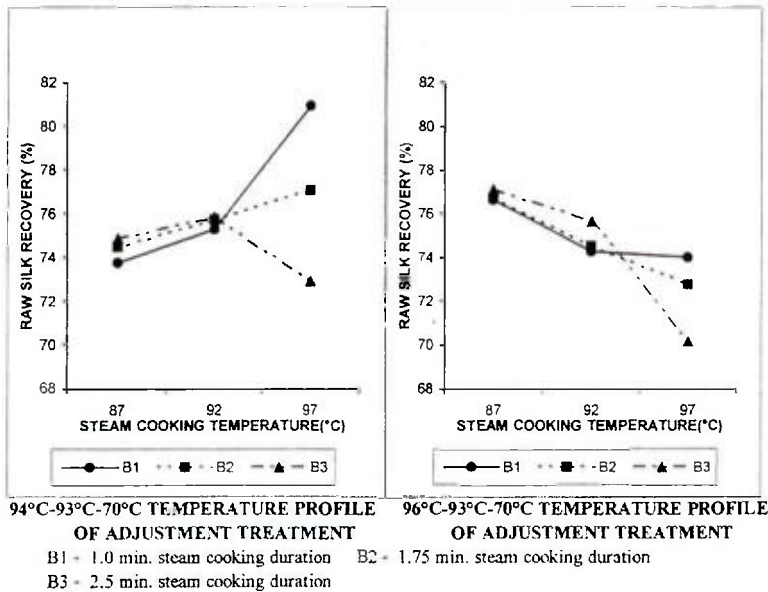


Fig. 3. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on raw silk recovery.

Fig. 3. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson et du profil de température du traitement d'ajustement sur la récupération de soie grège.

B1 = 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 = 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 = 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min.

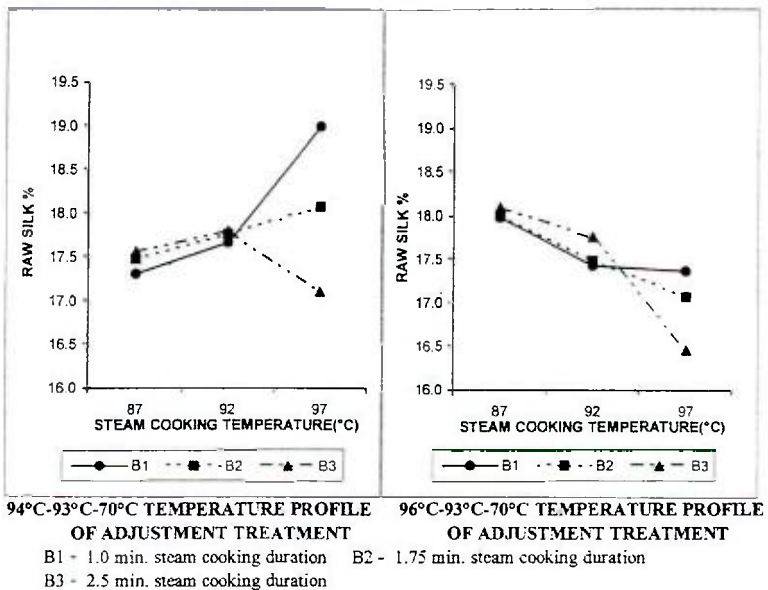


Fig. 4. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on raw silk %.

Fig. 4. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur le % de soie grège.

B1 = 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 = 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 = 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min.

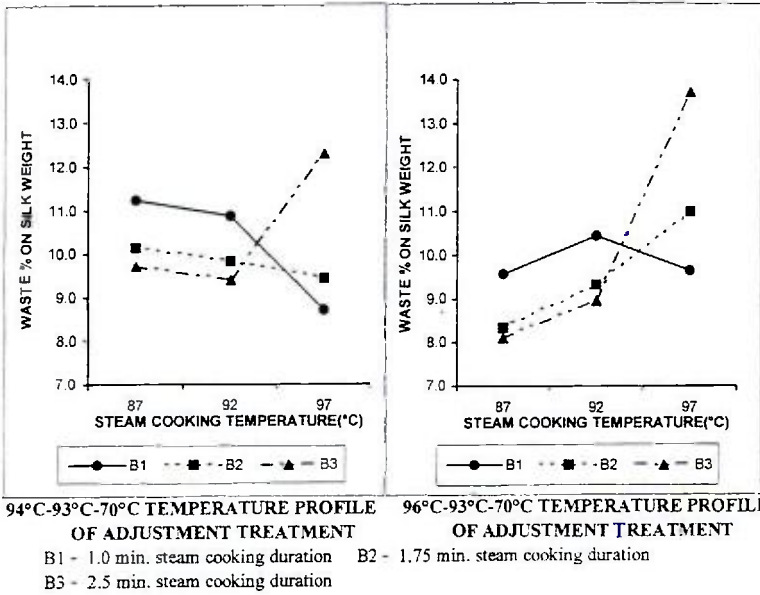


Fig. 5. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on waste % on silk weight.

Fig. 5. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur le % de déchets par rapport au poids de la soie.

B1 - 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 - 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 - 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2.5 min.

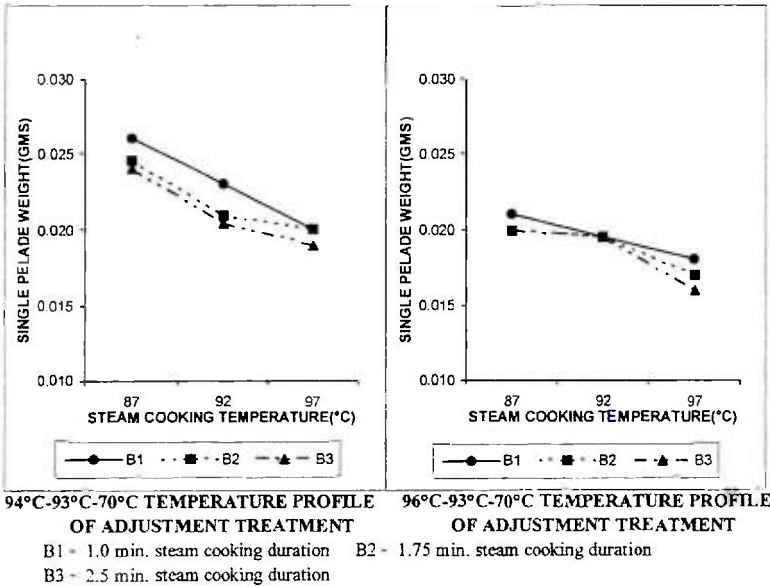


Fig. 6. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on pelade waste.

Fig. 6. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur les déchets de peléte.

B1 - 1.0 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1 min. B2 - 1.75 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur d'1.75 min. B3 - 2.5 min. steam cooking duration / durée de cuisson à la vapeur de 2.5 min.



From the figures (3, 4, 5 & 6) and Table I it is observed that 97°C steam cooking temperature, 1.0 min steam cooking duration and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have given good raw silk recovery, less waste percentage and good raw silk% as compared to other conditions. Whereas 87°C and 92°C steam cooking temperatures (particularly with 1.0min duration) and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have affected significantly the raw silk recovery and hence raw silk % due to under cooking of cocoons. Under cooking condition at these temperatures has reduced the reelability (fig. 1 ) leading to more number of cocoon droppings during reeling. More number of cocoon droppings has resulted in increased waste % (fig.5) and hence reduced raw silk recovery and raw silk %.

Further from figure 6 it can be observed that at these conditions of 87°C and 92°C steam cooking temperatures particularly with 1.0 min & 1.75 min steam cooking durations, pelade waste is significantly at higher side as compared to other conditions. This is due to under cooking of cocoons. Because of insufficient heat energy at 87°C and 92°C steam cooking temperatures with 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment, inside layers of cocoon shell have not cooked properly and hence resulted in increased pelade waste. Higher pelade waste has also contributed to the reduction in raw silk % at these steam cooking temperatures.

From the contribution ratio analysis results (Table III) it can be observed that interaction effect of steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment, steam cooking temperature and steam cooking duration have more influence on raw silk recovery, raw silk % and waste %; whereas steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment have more influence on pelade waste as compared to other factors.

Further from figure 4 it is observed that 97°C steam cooking temperature and 2.5 min. duration of steam cooking treatment with both 94°C -70°C and 96°C -70°C temperature profiles of adjustment treatment have also reduced the raw silk % significantly as compared to other conditions. This is due to over softening of outside layers of cocoon shell leading to generation of more brushing waste (fig. 5).

From Table II it can be observed that, interaction effect of steam cooking temperature and steam cooking duration has significant influence (at 1% level) on raw silk recovery, raw silk % and waste % and interaction effect of steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment has significant (at 1% level) influence on raw silk recovery, raw silk %, waste % and pelade waste. Further interaction effect of steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment has significant influence (at 5%) level on raw silk recovery, raw silk % and pelade waste.

## CONCLUSION

Temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment have significant influence on reelability, raw silk recovery, raw silk %, waste % and pelade waste. Steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment play a dominant role on reelability, whereas interaction effect of steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment and steam cooking temperature and its duration of treatment have more influence on waste % and raw silk %.

From the results it can be inferred that in order to achieve better reeling characteristics from CSR bivoltine hybrid cocoons, it is essential to use higher steam cooking temperature of 97°C. Further, duration of steam cooking treatment has to be selected depending upon the cocoon quality, targeted raw silk yield and quality.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the technical staff of reeling division of CSTRI, Bangalore for their active support.

## REFERENCES

- KINOSHITA. H & SUGANUMA.Y (1979) "Studies on the systematization of cocoon cooking (I) : On the analysis of the reeling characteristics by multivariate analysis, Journal. Sericultural Science, Japan, 48(5), 404 – 410.
- KINOSHITA. H, SUGANUMA.Y & WATASE. H (1980) "Studies on the systematization of cocoon cooking(II) : On the optimization of cocoon cooking by temperature patterns", Journal. Sericultural Science, Japan, 49(4), 352 – 358.
- SHIMAZAKI.A, SEKIJIMA. M.(1961), Studies on pretreatment of cocoon cooking. Part I.J. Silk Si.Tech. Japan , 11, 1-8.
- SHIMAZAKI.A.YAMAMOTO A (1962) Studies on pretreatment of cocoon cooking, Part-II, J. Silk Sci Tech, Japan, 12, 4-7.
- TAZIMA. F. & KINOSHITA. H. (1989) : Decision method of the optimum temperature pattern of cocoon cooking based on the fuzzy theory, Journal. Sericultural Science, Japan, 58(5), 419 – 423.

## ETUDES SUR LA CUISSON DE COCONS BIVOLTINS DEUXIEME PARTIE : EFFET DU TRAITEMENT DE CUISSON DU COCON (GONFLEMENT) ET DU TRAITEMENT D'AJUSTEMENT SUR LA PERFORMANCE DE DEVIDAGE DES COCONS HYBRIDES BIVOLTINS INDIENS

SUBHAS V. NAIK\* & T. H. SOMASHEKAR

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B. T. M. Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560 068, Inde.

*Nous avons étudié l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de cuisson des cocons sur les caractéristiques de dévidage en utilisant des cocons hybrides bivoltins de la race CSR. On observe que les trois facteurs, c'est à dire la température, la durée de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative sur la dévidabilité, la longueur du filament sans rupture, la récupération de soie grège, le % de déchets et le % de soie grège. La température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement jouent un rôle dominant sur la dévidabilité tandis que l'effet d'interaction entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement entre la température de cuisson à la vapeur et la durée de cuisson à la vapeur ont plus d'influence sur la récupération de soie grège, le % de soie grège et le % de déchets.*

*On observe que les températures de cuisson faibles de 87° C et de 92° C et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C entraînent un manque de cuisson des cocons, ce qui a un effet sur les caractéristiques de dévidage. Tandis qu'une température de cuisson à la vapeur plus élevée de 97° C avec une durée de cuisson plus courte d'1 mn donne une meilleure performance de dévidage, qui peut être attribuée à la cuisson des cocons au niveau requis.*

### INTRODUCTION

La cuisson du cocon est un processus important du dévidage de la soie, qui a un rôle décisif sur la performance de dévidage. Une cuisson efficace comprend six traitements. Le traitement de cuisson à la vapeur et le traitement d'ajustement sont deux traitements importants parmi les 6 traitements de cuisson du cocon. Une série d'études a été réalisée au Japon (Kinoshita, 1979, 1981 ; Shimazaki, 1961, 1962 ; Takabayashi, 1985) par rapport à l'influence des paramètres de cuisson sur les caractéristiques de dévidage. Ces études ont été réalisées avec des cocons du Japon. Puisque les paramètres de cuisson du cocon dépendent dans l'ensemble de facteurs tels que les caractéristiques du cocon et la qualité de l'eau, les études de ce type sont aussi essentielles pour les cocons hybrides bivoltins indiens de la race CSR. Il existe peu de littérature publiée dans ce domaine. Cette étude a donc été réalisée en utilisant une machine circulaire pressurisée de cuisson des cocons (mise au point par le *Central Silk Technological Research Institute*, CSB, à Bangalore en Inde) pour étudier

\* Auteur auquel adresser la correspondance.

l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de cuisson du cocon sur la performance de dévidage des cocons bivoltins indiens de la race CSR.

## MATERIELS ET METHODES

### 1. Matière première :

Des cocons hybrides bivoltins de la race CSR2 × CSR4 sont utilisés pour l'étude.

### 2. Conditions de séchage :

Les cocons sont séchés dans un séchoir à air chaud en série en suivant un profil de température de 115° C à 50° C pendant une période de cinq heures, pour atteindre un degré de séchage d'environ 42 %.

### 3. Cuisson du cocon :

On procède à la cuisson du cocon en utilisant une machine circulaire pressurisée de cuisson des cocons en série du CSRTI. La température et la durée utilisés d'après la conception de l'expérience sont les suivantes :

#### a) Conditions de rouissage :

Température : 70° C  
Durée : 1,5 min.

#### b) Traitement à température élevée (vapeur) :

Température : 90° C  
Durée : 1,5 min.

#### c) Traitement à l'eau à faible température (imprégnation) :

Température : 75° C  
Durée : 1,75 min.

(Note : Après le traitement de l'eau à basse température (imprégnation), on conserve les cocons au-dessus du niveau de l'eau dans une machine de cuisson à la vapeur à une température de 75° C et on augmente la température de l'eau à la température initiale requise (94° C / 96° C) pour le traitement d'ajustement pendant une période constante de 4 minutes avant de commencer le traitement de cuisson à la vapeur).

#### d) Cuisson à la vapeur :

Température :	<b>A1</b> 87° C	<b>A2</b> 92° C	<b>A3</b> 97° C
Durée :	<b>B1</b> 1 min.	<b>B2</b> 1,75 min.	<b>B3</b> 2,5 min.

#### c) Traitement d'ajustement :

Température initiale :	<b>C1</b> 94° C – 93° C – 70° C	<b>C2</b> 96° C – 93° C – 70° C
Durée :	6 minutes	6 minutes



(Au début, les cocons sont traités pendant une minute dans de l'eau à 94° C dans le cas de C1 et dans de l'eau à 96° C dans le cas de C2, puis on diminue la température de l'eau progressivement à 93° C et à 70° C dans les deux cas en 5 minutes en aspergeant de l'eau).

#### 4. Purgeage :

Les cocons cuits sont purgés dans de l'eau chaude à 80° C.

#### 5. Conditions de dévidage :

Les cocons sont dévidés sur une machine de dévidage multibouts du CSRTI avec les paramètres suivants :

Vitesse de dévidage :	100 m / min.
Longueur de croisure :	8 cms
Température de l'eau de la bassine :	40° C

#### 6. Qualité de l'eau :

Une eau avec les caractéristiques habituelles pour le dévidage, c'est à dire un pH de 7,1, une dureté de 70 ppm et une alcalinité de 80 ppm est utilisée pour l'étude.

Les caractéristiques de dévidage, c'est à dire la dévidabilité, la longueur du filament sans rupture, la récupération de soie grège, le % de déchets par rapport au poids de la soie et le % de soie grège sont calculés pour les différentes combinaisons conçues dans l'expérience.

#### 7. Analyse des données :

Les données recueillies sont analysées de manière statistique.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Dévidabilité et longueur du filament sans rupture :

Les résultats moyens sur l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la performance de dévidage sont présentés dans le Tableau I. Les résultats de l'analyse de variance et du taux de contribution sont présentés dans les Tableaux II et III.

D'après le Tableau I et les figures 1 et 2, on observe qu'alors que la température de cuisson à la vapeur augmente de 87° C à 97° C, la dévidabilité et la longueur du filament sans rupture augmentent de manière significative. La dévidabilité et la longueur du filament sans rupture s'avèrent aussi augmenter alors que la durée de cuisson à la vapeur augmente de 1 min. à 2,5 min.

De plus, on peut voir que d'après la figure 1 le profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C donne une dévidabilité significativement meilleure par comparaison à un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C. Les meilleures dévidabilité et longueur du filament sans rupture avec une température de cuisson à la vapeur de 97° C, une durée de cuisson à la vapeur de 1,75 min. et de 2,5 min. et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C peuvent être attribuées à un degré de cuisson plus élevé et donc à un degré plus élevé de gonflement et de ramollissement de la séricine dans les couches de la coque soyeuse. D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II), on peut observer que l'influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la dévidabilité et la longueur du filament sans rupture est significative sur le plan statistique au seuil de 1 %. D'après le Tableau I (valeurs DC), on peut aussi observer que les différences de dévidabilité et de longueur du filament sans rupture entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C et de 92° C ; de 87° C et de 97° C ; de 92° C et de 97° C et entre 1 minute et 1,75 minutes ; entre 1 minute et 2,5 minutes ; entre 1,75 minutes et 2,5 minutes pour les durées de cuisson à la vapeur sont significatives au seuil de 1 %.

La baisse significative de la dévidabilité et donc de la longueur du filament sans rupture à des températures de cuisson à la vapeur de 87° C et de 92° C, des durées de cuisson à la vapeur de 1 à 1,75 minutes et avec un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C (fig. 1 & 2) est attribuée au manque de cuisson des cocons. On doit noter que le gonflement et l'amollissement de la séricine sont causés par l'interaction entre la chaleur, la quantité d'eau absorbée par la couche du cocon et les propriétés de l'eau. Après la pénétration de la quantité d'eau nécessaire dans le cocon et la coque soyeuse pendant le pre-traitement de cuisson du cocon, l'énergie calorifique requise est indispensable dans la zone de cuisson pour cuire les couches de la coque soyeuse de manière uniforme, autrement cela entraîne un manque de cuisson ou une cuisson irrégulière. Des températures de cuisson à la vapeur de 87° C et de 92° C, un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C ne donnent pas l'énergie calorifique nécessaire pour cuire les cocons et donc entraînent un manque de cuisson des cocons.

De plus, d'après les résultats de l'analyse du ratio de contribution (Tableau III), on observe que la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement jouent un rôle dominant sur le dévidage. Les résultats indiquent clairement que la température de cuisson à la vapeur et la durée de cuisson à la vapeur plus élevées et une température initiale plus élevée du traitement d'ajustement sont essentielles pour obtenir le gonflement et l'amollissement requis de la séricine et donc une dévidabilité et une longueur du filament sans rupture meilleures.

## **2. Récupération de soie grège, pourcentage de soie grège, pourcentage de déchets et déchets de pélette :**

D'après l'analyse de variance dans le Tableau II, on peut observer que l'influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la récupération de soie grège, le % de déchets, les déchets de pélette et le % de soie grège est significative sur le plan statistique au seuil de 1 %.

D'après les figures (3, 4, 5 & 6) et le Tableau I, on observe qu'une température de cuisson à la vapeur de 97° C, une durée de cuisson à la vapeur de 1 min. et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C donnent une bonne récupération de soie grège, moins de déchets et un bon pourcentage de soie grège par comparaison aux autres conditions. Des températures de cuisson à la vapeur de 87° C et 92° C (particulièrement avec une durée d'1 min.) et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C affectent significativement la récupération de soie grège et donc le % de soie grège en raison du manque de cuisson des cocons. Le manque de cuisson à ces températures diminue la dévidabilité (fig. 1), ce qui entraîne plus de cassures dans les cocons pendant le dévidage. Le plus grand nombre de cassures dans les cocons entraîne une augmentation du % de déchets (fig. 5) et donc une diminution de la récupération de soie grège et du % de soie grège.

De plus d'après la figure 6, on peut observer qu'à ces conditions de températures de cuisson de 87° C et de 92° C particulièrement avec des durées de cuisson à la vapeur de 1 min. et de 1,75 min, les déchets de pélette sont significativement plus élevés que dans les autres conditions. Cela est dû au manque de cuisson des cocons. En raison d'une insuffisance d'énergie calorifique avec des températures de cuisson à la vapeur de 87° C et de 92° C et avec un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C, les couches internes de la coque soyeuse ne cuisent pas correctement ce qui entraîne une augmentation des déchets de pélette. Les déchets de pélette plus élevés contribuent aussi à la diminution du % de soie grège à ces températures de cuisson à la vapeur.

D'après les résultats de l'analyse du taux de contribution (Tableau III), on peut observer que l'effet d'interaction entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement, contre la température de cuisson à la vapeur et la durée de cuisson à la vapeur ont plus d'influence sur la récupération de soie grège, le % de soie grège et le % de déchets ; tandis que la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont plus d'influence sur les déchets de pélette.

De plus, d'après la figure 4, on observe que la température de cuisson à la vapeur de 97° C et la durée du traitement de cuisson à la vapeur de 2,5 min. avec les deux profils de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C et de 96° C – 70° C diminuent le % de soie grège de manière significative par comparaison aux autres conditions. Cela est dû à un trop grand ramollissement des couches externes de la coque soyeuse, ce qui entraîne une génération plus importante de déchets de purgeage (fig. 5).

D'après le Tableau II, on peut observer que l'effet d'interaction entre la température de cuisson à la vapeur et la durée de cuisson à la vapeur est significatif (au seuil de 1 %) sur la récupération de soie grège, le % de soie grège et le % de déchets et l'effet d'interaction entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement est significatif (au seuil de 1 %) sur la récupération de soie grège, le % de soie grège, le % de déchets et les déchets de pélette. De plus, l'effet d'interaction entre la durée de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement est significatif (au seuil de 5 %) sur la récupération de soie grège, le % de soie grège et les déchets de pélette.

## CONCLUSION

La température et la durée du traitement de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative sur la dévidabilité, la récupération de soie grège, le % de soie grège, le % de déchets et les déchets de pélette. La température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement jouent un rôle dominant sur la dévidabilité tandis que l'effet d'interaction entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement et entre la température de cuisson à la vapeur et la durée de traitement ont plus d'influence sur le % de déchets et le % de soie grège.

On peut déduire des résultats que pour obtenir de meilleures caractéristiques de dévidage à partir de cocons hybrides CSR, il est essentiel d'utiliser une température de cuisson de 97° C. De plus, la durée du traitement de cuisson à la vapeur doit être sélectionnée en fonction de la qualité du cocon, et du rendement et de la qualité de la soie grège ciblés.

**STUDIES ON BIVOLTINE COCOON COOKING (PART III):  
EFFECT OF COCOON COOKING (SWELLING) TREATMENT  
AND ADJUSTMENT TREATMENT ON QUALITY  
CHARACTERISTICS OF RAW SILK OF INDIAN BIVOLTINE  
HYBRID COCOONS**

**SUBHAS V. NAIK\* & T.H. SOMASHEKAR**

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B.T.M Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560068, India.

*The influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on raw quality characteristics has been studied using CSR race bivoltine hybrid cocoons. From the results it is observed that all three factors i. e., temperature and duration of steam cooking treatment, and temperature profile of adjustment treatment have a significant influence on neatness, low neatness, cleanness, tenacity, elongation and cohesion characteristics of raw silk. It is observed that steam cooking temperature i.e. 87° C & 92° C and 94° C -70°C temperature profile of adjustment treatment have resulted in under cooking of cocoons and thereby affected quality of raw silk. Whereas 97°C steam cooking temperature and 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment have resulted in uniform cooking leading to better quality of raw silk as compared to other conditions. Results indicated that steam cooking temperature plays a dominant role on neatness, cleanness, elongation and cohesion of raw silk, whereas temperature profile of adjustment treatment have more influence on cohesion of raw silk.*

**Keywords:** Steam cooking temperature, Adjustment temperature, Neatness, Cleanness, Tenacity, Elongation, Cohesion

**INTRODUCTION**

Cocoon cooking process should ensure uniform swelling and softening of sericin of all the cocoon filament layers of the shell to the required level in order to produce raw silk with better quality characteristics. Efficient cocoon cooking involves six treatments. Steam cooking treatment and adjustment treatment are two important treatments of these 6 treatments of cocoon cooking. A series of studies have been conducted in Japan (Yashiro M. 1968, Kinoshita *et. al.*, 1991) with respect to influence of cocoon cooking parameters on quality characteristics of raw silk. These studies have been conducted with cocoons of their origin. Studies have also been conducted on influence of cooking condition on quality of raw silk (Song K.E., 1985, Subhas *et. al* 1995 & 1996). In continuation, the present study has been conducted with CSR race (Indian) bivoltine hybrid cocoons using pressurized circular cooking machine (developed by CSTRI, CSB, Bangalore, India) to investigate the influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on quality characteristics of raw silk.

---

\* Author to whom correspondence may be addressed.



## MATERIALS AND METHODS

### 1. Raw material:

Bivoltine hybrid cocoons of CSR2 × CSR4 race were used for the study.

### 2. Drying conditions:

The cocoons were dried in a batch type hot air drier following a temperature profile of 115° C to 50° C for a period of five hours, achieving around 42.67 % degree of drying.

### 3. Cocoon cooking:

Cocoon cooking was carried out using CSTR1 batch type Pressurised circular cocoon cooking machine. The temperature and duration used as per the design of experiment were as follows:

#### a) Retting conditions:

Temperature:	70° C
Duration:	1.5 min

#### b) High temperature (steam) treatment:

Temperature:	90° C
Duration:	1.5min

#### c) Low temperature water (permeation) treatment:

Temperature:	75° C
Duration:	1.75 min

(Note: After low temperature water (permeation) treatment, cocoons were kept above the water level in cooking machine at 75°C steam temperature and water temperature were raised to required initial temperature ( 94°C / 96°C ) of adjustment treatment within a constant period of 4 minutes before starting the steam cooking treatment).

#### d) Steam cooking:

	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
Temperature:	87° C	92° C	97° C
	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>
Duration:	1.0 min.	1.75min.	2.5 min.

#### e) Adjustment treatment:

	<b>C1</b>	<b>C2</b>
Initial temperature:	94° C - 93° C - 70° C	96° C - 93° C - 70° C
Duration:	6 minutes	6 minutes

(Initially cocoons were treated for 1min at 94° C water in case of C1 and at 96° C water in case of C2, and then water temperature was reduced gradually to 93° C and then to 70° C in both cases in 5 minutes by sprinkling the water.)

### 4. Brushing:

Cooked cocoons were brushed at 80°C hot water.

### 5. Reeling conditions:

The cocoons were reeled on CSTR1 Multiend reeling machine with following parameters:

Reeling speed :	100 mtrs / min
Croissure length :	8cms
Basin water temperature:	40°C

### 6. Water Quality :

Water having standard characteristics for reeling i. e. 7.1 pH, 70 ppm hardness and 100 ppm Alkalinity was used for the study.

### 7. Raw silk testing:

The raw silk samples were tested for Cleanness, Neatness and Low neatness characteristics using Scriplane tester and Cohesion character using Duplan Cohesion tester following international standard procedure. Further, tenacity and elongation of raw silk were tested using Instron following standard procedure.

### 8. Data analysis:

The data collected were statistically analysed.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

### Neatness and low neatness:

From the Table I and figure 1 it can be seen that as the steam cooking temperature increases from 87° C to 97° C, neatness & low neatness of raw silk also increases significantly both in case of 94° C -70° C and 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment. 96° C temperature profile of adjustment treatment has given better neatness and low neatness of raw silk as compared to 94° C -70° C temperature profile of adjustment treatment. 97° C steam cooking temperature (with all the three steam cooking durations) both in case of 94° C -70° C & 96° C -70° C temperature profiles of adjustment treatment has given better neatness of raw silk.

From the analysis of variance results (Table II) it can be observed that influence of temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment on neatness and low neatness of raw silk is significant at 1% level. From the interaction effect ( Table I & figure 1) it can be observed that 87° C steam cooking temperature and 94° C -70° C temperature profile of adjustment treatment combinations have affected neatness and low neatness of raw silk very severely. 97% of neatness at 97° C steam cooking temperature, 1.0 minute steam cooking duration and 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment has come down to 88% at 87° C steam cooking temperature, 1.0 minute steam cooking duration & 94° C -70° C temperature profile of adjustment treatment combination and which is quite significant.

From Table I (CD values) it is observed that differences in neatness and low neatness of raw silk between 87° C, 92° C & 97° C steam cooking temperatures are significant at 1% level. Difference in neatness of raw silk between steam cooking duration of 1 minute & 1.75 minute is insignificant, whereas differences in neatness of raw silk between 1 minute & 2.5 minute and 1.75 minute & 2.5 minute are significant at 1% level. Differences in low neatness of raw silk between 1min & 1.75 min and 1 min & 2.5min steam cooking durations are significant at 1% level, whereas that between 1.75 min & 2.5 min is insignificant.

Significant reduction in neatness and low neatness of raw silk at 87° C steam cooking temperature & 94° C -70° C temperature profile of adjustment treatment combination is attributed to under/uneven cooking of cocoons. It is to be noted that in case of under cooking, sericin of the cocoon filament layers (cross over points) will not be softened properly and uniformly leading to occurrence of small loops in the raw silk. In addition, because of under cooking, during reeling the chances of occurrence of nibs/hairiness in the raw silk is more, as the filament crossover points are not softened to the required level. These forms the neatness defects in the thread.

**Cleanness of raw silk:**

From the analysis of variance results (Table II), it can be observed that, influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cleanness of raw silk is significant at 1 % level.

**Table I. Effect of temperature & duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment of cocoon cooking on quality characteristics of raw silk (mean values).**

*Tableau I. Effet de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de cuisson des cocons sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège (valeurs moyennes).*

Cooking parameters	Neatness (%)	Low Neatness (%)	Cleanness (%)	Tenacity (g/d)	Elongation (%)	Cohesion (No. of Strokes)
<i>Paramètres de cuisson</i>	<i>Netteté (%)</i>	<i>Netteté minimum (%)</i>	<i>Propreté (%)</i>	<i>Ténacité (g/d)</i>	<i>Allongement (%)</i>	<i>Cohésion (Nbre de coups)</i>
A1B1C1	88.0	85.0	85.5	3.90	18.34	61
A1B2C1	89.0	85.0	87.0	3.98	18.54	67
A1B3C1	90.0	85.0	88.0	4.18	19.35	83
A2B1C1	91.0	86.5	88.0	3.80	20.85	89
A2B2C1	92.0	88.0	88.5	3.92	22.23	117
A2B3C1	95.0	88.0	91.5	3.92	22.21	127
A3B1C1	95.0	90.0	93.5	3.93	22.71	130
A3B2C1	95.5	95.0	95.0	3.93	23.90	158
A3B3C1	97.0	95.0	93.5	3.94	23.95	166
A1B1C2	90.0	86.5	85.0	3.93	18.89	73
A1B2C2	90.0	86.5	88.0	3.83	19.07	81
A1B3C2	93.0	88.0	88.0	3.78	20.23	93
A2B1C2	95.0	90.0	90.0	3.78	21.48	119
A2B2C2	95.0	90.0	92.5	3.83	22.12	140
A2B3C2	95.0	90.0	93.5	3.84	22.61	143
A3B1C2	97.0	95.0	97.5	3.85	23.74	163
A3B2C2	97.0	95.0	95.0	3.87	23.81	141
A3B3C2	97.0	95.0	92.5	3.91	23.15	129
CD (P <= 0.05) for						
A	0.7	0.7	0.6	0.04	0.28	3
B	0.7	0.7	0.6	0.04	0.28	3
C	0.6	0.6	0.5	0.03	0.23	3
A × B	1.3	1.2	1.0	0.06	0.48	5
A × C	1.0	1.0	0.9	0.05	0.39	4
B × C	1.0	1.0	0.9	0.05	0.39	4
A × B × C	1.8	1.7	1.5	0.09	0.68	8

**A** — Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur* (A1 = 87°C, A2 = 92°C, A3 = 97°C).  
**B** — Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur* (B1 = 1.0 Min, B2 = 1.75 Min, B3 = 2.5 Min).  
**C** — Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement*.  
(C1 = 94°C - 93°C - 70°C, C2 = 96°C - 93°C - 70°C)

Table II. Analysis of variance of quality characteristics of raw silk of Bivoltine hybrid cocoons.

Tableau II. Analyse de variance pour les caractéristiques qualitatives de la soie grège chez des cocons hybrides bivoltins.

Factors	Degree of freedom	Mean sum of squares					
		Neatness	Low Neatness	Cleanness	Tenacity	Elongation	Cohesion
<i>Somme moyenne des carrés</i>							
Facteurs	Degré de liberté	Netteté	Netteté minimum	Propreté	Ténacité	Allongement	
A	2	125.083**	207.194**	172.528**	0.02154**	61.521**	15757**
B	2	11.083**	6.028**	5.528**	0.012**	2.599**	943.083**
C	1	30.25**	38.028**	14.694**	0.089**	1.02**	793.361**
A × B	4	0.667 <sup>NS</sup>	1.903 <sup>NS</sup>	11.194**	0.002961	0.57**	281.333**
A × C	2	1.083 <sup>NS</sup>	0.528 <sup>NS</sup>	4.861**	0.01288**	0.275 <sup>NS</sup>	707.444**
B × C	2	2.083 <sup>NS</sup>	3.861**	2.028**	0.01542**	0.359 <sup>NS</sup>	640.194**
A × B × C	4	2.167 <sup>NS</sup>	2.986**	3.444**	0.01604**	0.34*	348.278**
Replication / Répétition	1	0.02778	2.25	2.25	0.001003	0.234	110.25
Error / Écart	17	0.734	0.662	0.485	0.001685	0.104	13.015

\*\* Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*. \* Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*. NS: Non significant / *Non significatif*.

**A** — Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur*. **B** - Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur*. **C** - Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement*.



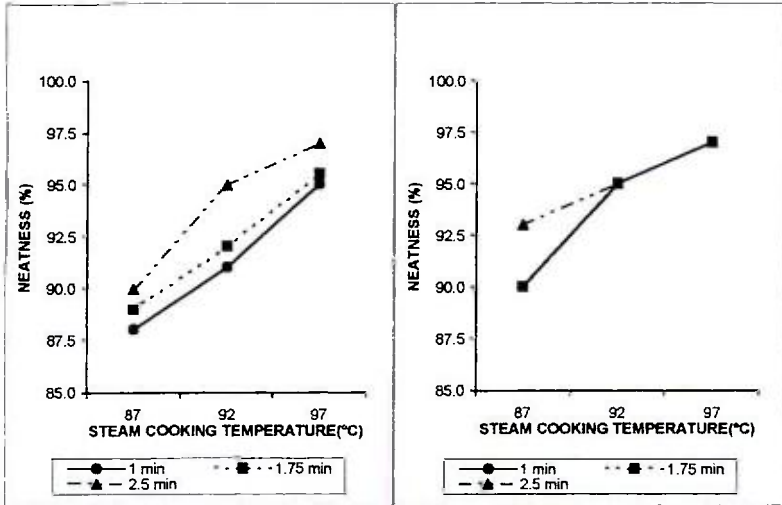
**Table III. Contribution ratio (%) analysis of cocoon cooking parameters on quality characteristics of raw silk.***Tableau III. Analyse du ratio de contribution (%) des paramètres de cuisson du cocon sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège.*

Cooking parameters	Contribution ratio (%) of cooking parameters					
	Neatness	Low Neatness	Cleanness	Tenacity	Elongation	Cohesion
Paramètres de cuisson	Taux de contribution (%) des paramètres de cuisson					
	Netteté	Netteté minimum	Propreté	Ténacité	Allongement	Cohésion
A	74.74	81.58	75.85	12.45	90.20	79.24
B	6.22	2.12	2.22	6.53	3.66	4.68
C	8.87	7.38	3.13	27.27		1.96
A × B			9.44		1.37	2.70
A × C			1.93	7.02		3.50
B × C		1.26	0.68	8.61		3.16
A × B × C		1.84	2.61	18.00		3.38

**A** — Steam cooking temperature / *Température de cuisson à la vapeur.* **B** - Steam cooking duration / *Durée de cuisson à la vapeur.* **C** - Temperature profile of adjustment treatment / *Profil de température du traitement d'ajustement.*

(Note : Only significant values of contributing factors are given in table). / *Pour les facteurs de contribution seules les valeurs significatives sont présentées dans le Tableau.*

From figure 2 and Table I it is observed that at 97°C steam cooking temperature, 1 minute steam cooking duration, and 96°C -70°C temperature profile of adjustment treatment combination has given better cleanness of raw silk as compared to any other conditions and it is attributed to better and uniform swelling and softening of sericin of all the filament cross over points and layers of cocoon shell. Whereas 87° C steam cooking temperature with all the three steam cooking durations and both in case of 94° C -70° C & 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment has affected the cleanness of raw silk severely. 97.5% cleanness (fig. 2) of raw silk at 97° C steam cooking temperature, 1 minute steam cooking duration and 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment combination has come down to 85.5 % at 87°C steam cooking temperature, 1 minute duration and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment and which is quite significant. This is attributed to under cooking of cocoons and hence improper swelling and softening of sericin of cocoon filament crossover points in the cocoons.

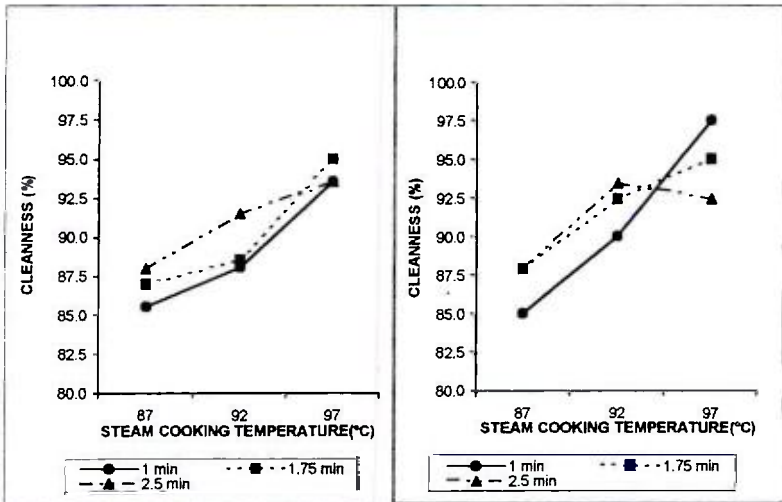


**94°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
 B1 - 1.0 min. steam cooking duration  
 B3 - 2.5 min. steam cooking duration

**96°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
 B2 - 1.75 min. steam cooking duration

Fig. 1. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on neatness of raw silk.

Fig. 1. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la netteté de la soie grège.



**94°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
 B1 - 1.0 min. steam cooking duration  
 B3 - 2.5 min. steam cooking duration

**96°C-93°C-70°C TEMPERATURE PROFILE OF ADJUSTMENT TREATMENT**  
 B2 - 1.75 min. steam cooking duration

Fig. 2. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cleanness of raw silk.

Fig. 2. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la propreté de la soie grège.

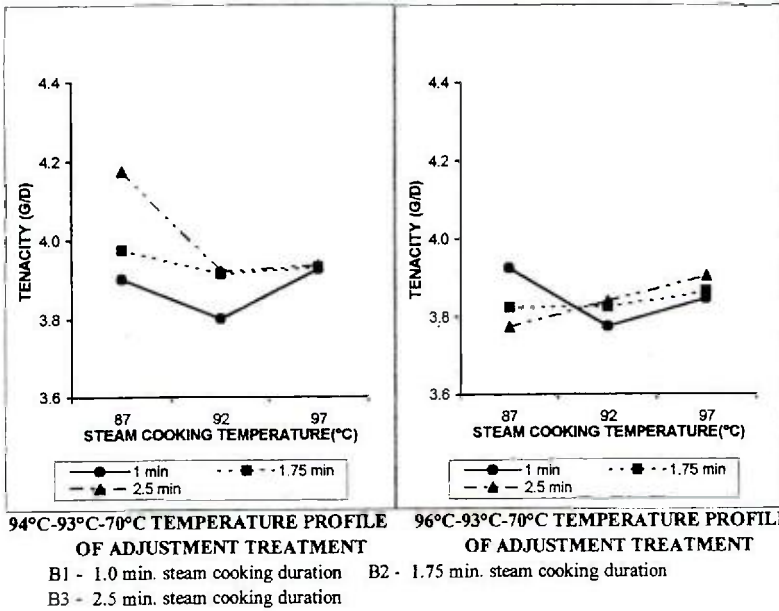


Fig. 3. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on tenacity of raw silk.

Fig. 3. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la ténacité de la soie grège.

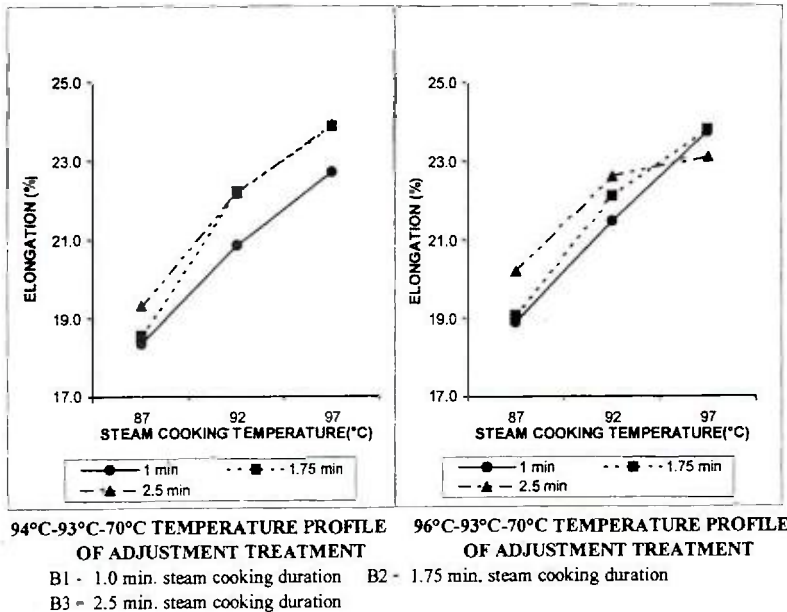


Fig. 4. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on elongation of raw silk.

Fig. 4. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur l'allongement de la soie grège.

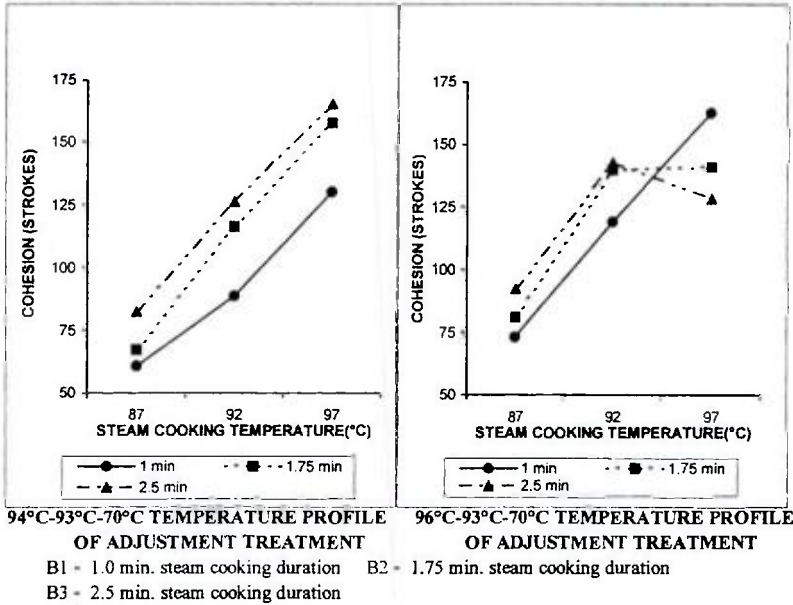


Fig. 5. Influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cohesion of raw silk.

Fig. 5. Influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la cohésion de la soie grège.

It is to be noted that in case of under cooking, sericin of the cocoon filament cross over points and layers in the cocoons will not be softened properly and uniformly leading to occurrence of loops in the cocoon filaments. In addition, because of under cooking, during reeling the chances of escaping more number of crossover points (between the cocoon layers) at a time (without unwinding) along with cocoon filament during reeling is more leading to the formation of nibs/slugs in the thread. These defects reduce the cleanness of raw silk.

Interaction effect (Table II) of steam cooking temperature and steam cooking duration and steam cooking temperature & temperature profile of adjustment treatment on cleanness of raw silk is significant at 1% level. Whereas that of steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on cleanness of raw silk is significant at 5% level. Combined interaction effect of steam cooking temperature, duration and temperature profile of adjustment treatment on cleanness of raw silk is also significant at 1% level.

Further from the Table I (CD values) it is observed that differences in cleanness of raw silk between 87°C, 92°C & 97°C steam cooking temperatures and between steam cooking durations of 1 minute & 1.75 minute, 1 minute & 2.5 minute are significant at 1% level.

From the contribution ratio analysis (Table III) it can be observed that steam cooking temperature is more predominant on cleanness of raw silk as compared to other cooking parameters.

From figure 2 it can be observed that in case of 97°C steam cooking temperature, 2.5 minute steam cooking duration and 96°C-70°C temperature profile of adjustment treatment combination has also reduced the cleanness of raw silk. This can be attributed to over cooking of cocoons at these conditions with 2.5 minute steam cooking duration.

In case of over cooking, because of higher cooking temperature and duration, the cocoon layers will be over cooked and due to this cross over points in the cocoon filament layers will be over softened



and hence chances of many cross over points coming along with the filament in the lump form and hence slug formation in the thread is more. In addition, because of over cooking, inner layers of the cocoons will also be over softened. Due to this chances of inner thin shell layers breaking and escaping along with the thread in the form of slug is more. So these are the reasons for occurrence of more cleanness defects in case of over cooked cocoons.

#### **Tenacity and elongation:**

From the analysis of variance results (Table II) it can be observed that influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment on tenacity and elongation of raw silk is significant at 1 % level.

From the figures 3 & 4 and Table I it is observed that steam cooking temperature of 87° C has given better tenacity but poor elongation as compared to other steam cooking temperatures. From figure 4 it can be observed that 87°C steam cooking temperature (with the duration of 1 minute and 1.75 minute) and 94°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have affected elongation of raw silk This is attributed to under cooking of cocoons. It is to be noted that when the cocoons are under cooked, because of improper/under softening of sericin of filament cross over points of cocoon layers, filament unwinding tension will be at higher side. Higher filament unwinding tension in turn increases the over all tension. Because of increase in reeling tension orientation of fibrils in the fibroin of a cocoon filament take place. Better orientation of fibrils in the fibroin results in increased the tenacity and decreased elongation of raw silk. Further, the stress developed during reeling in the raw silk of under cooked cocoons can be expected to be higher than the stress in the raw silk of better cooked cocoons due to the higher reeling tension in the case of under cooked cocoons. Thus the elongation of raw silk of under cooked cocoons is less as compared to elongation of raw silk of better cooked cocoons.

From the figures 3 & 4 and Table I it can also be seen that 97°C steam cooking temperature; and 96°C -70°C temperature profile of adjustment treatment have given better tenacity and elongation of raw silk. This is attributed to good cooking of cocoons leading to swelling and softening sericin filament cross over points and cocoon filament layers to the required level.

From the Table (CD values), it can be observed that the differences in tenacity of raw silk between 87° C and 92° C and 92° C and 97° C steam cooking temperatures are significant at 1% level; whereas that between 87°C and 97°C steam cooking temperature is insignificant. Further differences in tenacity of raw silk between 1min & 1.75 min steam cooking duration is insignificant; whereas those between 1min and 2.5min; between 1.75min and 2.5min are significant at 1% and 5% level respectively.

Further from Table I (CD values) it can be observed that the differences in elongation of raw silk between 87° C, 92° C and 97° C steam cooking temperatures and that between 1 minute, 1.75 minute and 2.5 minute steam cooking durations are significant at 1 % level.

Further, from the contribution ratio analysis results (Table III) it is observed that contribution of temperature profile of adjustment treatment is more on tenacity of raw silk, whereas contribution of steam cooking temperature is more on elongation of raw silk as compared to other factors.

#### **Cohesion of raw silk:**

From the analysis of variance results (Table II), it is observed that influence of steam cooking temperature, steam cooking duration and temperature profile of adjustment treatment have significant influence (at 1 % level) on cohesion of raw silk. Further interaction effects of steam cooking temperature and duration; steam cooking temperature and temperature profile of adjustment treatment and steam cocoon cooking duration and temperature profile of adjustment treatment have significant (at 1 % level) influence on cohesion of raw silk.

From figure 5 and Table I it is observed that 97°C steam cooking temperature, 1 minute steam cooking duration and 96° C - 70° C temperature profile of adjustment treatment combination has

given better cohesion of raw silk as compared to other conditions. This can be attributed to better swelling and softening degree of sericin of cocoon filament layers of cocoon shell uniformly in these conditions.

From the figure it can also be seen that 87° C steam cooking temperature, 1 minute and 1.7 minute steam cooking duration and 94° C -70° C temperature profile of adjustment treatment has affected cohesion of raw silk and given very poor cohesion. This can be attributed to under cooking of cocoons.

It is to be noted that when the cocoons are cooked properly the sericin of the filament will be swollen and softened to the required level. When these filaments from the cocoons pass through the croissure of good length during reeling the required agglutination of the filament in the raw silk thread will take place and hence results in good cohesion of raw silk.

Whereas, when the cocoons are under cooked, sericin of the cocoon filaments will not be swollen and softened to the required level, leading to poor agglutination of the filaments in the raw silk thread. This results in poor cohesion of raw silk, even though sufficient binding pressure exerted on the thread by putting a good croissure length (of 8cms~10cms) during reeling.

From the CD values (Table I) it can be seen that differences in cohesion of raw silk between 87° C, 92° C & 97° C steam cooking temperatures and between 1min, 1.75min, and 2.5min steam cooking durations are significant at 1% level.

From the contribution ratio analysis table it can be observed that, steam cooking temperature plays a dominant role on cohesion of raw silk as compared to other parameters. Results corroborate the findings of previous work ( Subhas 1995).

Further from figure 5 it can be observed that, 97°C steam cooking temperature and 96° C -70° C temperature profile of adjustment treatment combination has given comparatively less cohesion of raw silk with 2.5min steam cooking duration as compared to 1min steam cooking duration. This may be attributed to over softening of sericin (with 2.5 min steam cooking duration) and hence comparatively more dissolution (than standard norm) of sericin during cooking.

## CONCLUSION

Temperature and duration of steam cooking treatment and temperature profile of adjustment treatment have significant influence on raw silk quality characteristics. From the above results and discussions it becomes clear that, after impregnation of required quantity of water in the cocoon and cocoon shell in pre-treatment of cocoon cooking, cooking of the cocoons using higher steam cooking temperature of 97° C~98° C (to provide required heat energy) in cooking treatment is very essential for achieving better quality characteristics of raw silk. Results also indicate that using higher initial temperature of adjustment treatment is advantageous from quality of raw silk point of view. But it is to be noted that when higher temperatures are selected chances of over softening of outside layer is more and this has to be controlled by selecting suitable steam cooking and adjustment process durations depending upon the cocoon quality.

From the results it can be inferred that higher steam cooking temperature of 97° C~98° C and 96° C - 70° C temperature profile of adjustment treatment with suitable durations (depending upon the cocoon quality) are essential for the production of superior grade raw silk from CSR race bivoltine hybrid cocoons.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the technical staff of reeling division of CSTRI, Bangalore for their active support.

REFERENCES

- KINOSHITA H. & TAJIMA F (1990) Expert system for cocoon cooking by the application of fuzzy rules, *J. Seric. Science Japan* 59(4), 311-315.
- SONG K. E. & CHANG S.J.(1985) Studies on the modification of cocoon reeling method for improvement of cleanness of raw silk quality. Research reports of the rural development administration (Korea-R) V.27-1(E-Fm Sc), 78-81
- SUBHAS V. NAIK, C. TAKABAYASHI, T. TSUBOI & SOMASHEKAR T.H.(1995): Influence of cocoon cooking temperature on Cohesion of raw silk. *Sericologia* 35(3), 513-520.
- SUBHAS V. NAIK, C. TAKABAYASHI & T.H. SOMASHEKAR (1996). Influence of cocoon cooking conditions and Reeling speed on the reeling tension, tenacity and elongation of raw silk. *Sericologia* 36(2), 305-313.
- YOSHIRO MASAYO, SHIRO ONA, FUSAKICHI NAHAGAU (1968). On the rheological properties of raw silk in various condition for silk reeling, Report of silk science research institute, Japan, No.16, 47-62.

## ETUDES SUR LA CUISSON DE COCONS BIVOLTINS (TROISIEME PARTIE): EFFET DU TRAITEMENT DE CUISSON (GONFLEMENT) ET DU TRAITEMENT D'AJUSTEMENT SUR LES CARACTERISTIQUES QUALITATIVES DE LA SOIE GRÈGE DE COCONS HYBRIDES BIVOLTINS INDIENS

SUBHAS V. NAIK\* & T. H. SOMASHEKAR

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, B. T. M. Layout, Madiwala,  
Bangalore – 560 068, Inde.

*Nous avons étudié l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de cuisson des cocons sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège en utilisant des cocons hybrides bivoltins de la race CSR. D'après les résultats on observe que les trois facteurs c'est à dire la température, la durée du traitement de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative sur les caractéristiques de netteté, de netteté minimum, de propreté, de tenacité, d'allongement et de cohésion de la soie grège. On observe que la température de cuisson à la vapeur, c'est à dire 87° C et 92° C et le profil de température de 94° C – 70° C du traitement d'ajustement entraînent un manque de cuisson des cocons et affectent par là même la qualité de la soie grège. Tandis qu'une température de cuisson à la vapeur de 97° C et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C débouchent sur une cuisson uniforme qui donne une soie grège de meilleure qualité par comparaison aux autres conditions. Les résultats indiquent que la température de cuisson à la vapeur joue un rôle dominant sur la netteté, la propreté, l'allongement et la cohésion de la soie grège tandis que le profil de température du traitement d'ajustement a plus d'influence sur la cohésion de la soie grège.*

### INTRODUCTION

Le processus de cuisson du cocon doit assurer un gonflement et un amollissement uniformes de la séricine dans toutes les couches de la coque du cocon au niveau requis pour produire de la soie grège aux meilleures caractéristiques de qualité. Une cuisson efficace du cocon comprend six traitements. Le traitement de cuisson à la vapeur et le traitement d'ajustement sont deux traitements importants parmi les 6 traitements de cuisson du cocon. Une série d'études a été réalisée au Japon (Yashiro M. 1968, Kinoshita et coll., 1991) concernant l'influence des paramètres de cuisson sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège. Ces études ont été réalisées avec des cocons japonais. Des études ont aussi été réalisées sur l'influence des conditions de cuisson sur la qualité de la soie grège (Song K. E., 1985, Bubhas et coll., 1995 & 1996). Nous avons réalisé cette étude avec des cocons hybrides bivoltins (indiens) de la race CSR en utilisant une machine de cuisson circulaire pressurisée (mise au point par le CSRTI, CSB, à Bangalore, en Inde) pour étudier l'influence de la

---

\* Auteur auquel adresser la correspondance.



température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement de la cuisson du cocon sur les caractéristiques de la soie grège.

## MATERIELS ET METHODES

### 1. Matière première :

Des cocons hybrides bivoltins de la race CSR2 × CSR4 ont été utilisés pour l'étude.

### 2. Conditions de séchage :

Les cocons sont séchés dans un séchoir à air chaud en série en suivant un profil de température de 115° C à 50° C pendant une période de cinq heures, pour obtenir un degré de séchage d'environ 42,67 %.

### 3. Cuisson des cocons :

On procède à la cuisson des cocons en utilisant une machine circulaire pressurisée de cuisson des cocons en série. D'après la conception de l'expérience, la température et la durée utilisées sont les suivantes :

#### a) Conditions de rouissage :

Température :	70° C
Durée :	1,5 min

#### b) Traitement à température élevée (vapeur) :

Température :	90° C
Durée :	1,5 min.

#### c) Traitement avec de l'eau à basse température (imprégnation) :

Température :	75° C
Durée :	1,75 min

(Note : Après le traitement avec de l'eau à basse température (imprégnation), les cocons sont conservés au-dessus du niveau de l'eau dans une machine de cuisson à vapeur à 75° C et on augmente la température de l'eau à la température initiale requise (94° C / 96° C) du traitement d'ajustement pendant une période constante de 4 minutes avant de commencer le traitement de cuisson à la vapeur).

#### d) Cuisson à la vapeur :

	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
Température :	87° C	92° C	97° C
	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>
Durée :	1,0 min.	1,75 min.	2,5 min.

#### e) Traitement d'ajustement :

	<b>C1</b>	<b>C2</b>
Température initiale :	94° C – 93° C – 70° C	96° C – 93° C – 70° C
Durée :	6 minutes	6 minutes

(Au début les cocons sont traités dans les deux cas pendant 1 min. dans de l'eau à 94° C dans le cas de C1 et dans de l'eau à 96° C dans le cas de C2 puis on diminue progressivement la température de l'eau à 93° C et à 70° C en 5 minutes en vaporisant de l'eau).

#### 4. Purgeage :

Les cocons cuits sont purgés dans de l'eau chaude à 80° C.

#### 5. Conditions de dévidage :

Les cocons sont dévidés sur une machine de dévidage multibouts du CSRTI avec les paramètres suivants :

Vitesse de dévidage :	100 m / min
Longueur de croisure :	8 cm
Température de l'eau :	40° C

#### 6. Qualité de l'eau :

Une eau ayant les caractéristiques habituelles pour le dévidage, c'est à dire un pH de 7,1, une dureté de 70 ppm et une alcalinité de 100 ppm est utilisée pour l'étude.

#### 7. Tests de la soie grège :

Les échantillons de soie grège sont testés par rapport à leurs caractéristiques de propreté, de netteté et de netteté minimum en utilisant un testeur Seriplane et le caractère de cohésion en utilisant un testeur de cohésion Duplan en suivant la procédure habituelle internationale. De plus, on teste la ténacité et l'allongement de la soie grège en utilisant Instron en suivant la procédure habituelle.

#### 8. Analyse des données :

Les données recueillies sont analysées de manière statistique.

## RESULTATS ET DISCUSSION

#### Netteté et netteté minimum :

D'après le Tableau I et la figure 1, on peut voir qu'alors que la température de cuisson à la vapeur augmente de 87° C à 97° C, la netteté et la netteté minimum de la soie grège augmentent aussi de manière significative à la fois dans le cas d'un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C et de 96° C – 70° C. Un profil de température de 96° C pour le traitement d'ajustement donne une netteté et une netteté minimum de la soie grège meilleures par comparaison à un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C. Une température de cuisson à la vapeur de 97° C (avec les trois durées de cuisson) avec des profils de température pour le traitement d'ajustement de 94° C – 70° C et de 96° C – 70° C donne une meilleure netteté de la soie grège.

D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II) on peut observer que l'influence de la température et de la durée du traitement de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la netteté et la netteté minimum de la soie grège est significative au seuil de 1 %. D'après l'effet d'interaction (Tableau I & figure 1), on peut observer que des combinaisons d'une température de cuisson à la vapeur de 87° C et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C ont un effet très négatif sur la netteté et la netteté minimum de la soie grège. La netteté obtenue avec une température de cuisson à la vapeur de 97° C, une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C est de 97 % et elle passe à 88 % avec une combinaison d'une température de cuisson à la vapeur de 87° C, une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C, ce qui est assez significatif.

D'après le Tableau I (valeurs CD), on observe que les différences de netteté et de netteté minimum de la soie grège entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C, de 92° C et de 97° C sont significatives au seuil de 1 %. La différence de netteté de la soie grège entre une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et d'1,75 minutes est insignifiante tandis que les différences de netteté de la soie grège entre 1 minute et 2,5 minutes et entre 1,75 minutes et 2,5 minutes sont significatives au seuil

de 1 %. Les différences de netteté minimum de la soie grège entre des durées de cuisson à la vapeur de 1 minute et de 1,75 minutes et de 1 minute et 2,5 minutes sont significatives au seuil de 1 % tandis qu'entre 1,75 min et 2,5 min., elles sont insignifiantes.

On peut attribuer la diminution significative de la netteté et de la netteté minimum de la soie grège avec une température de cuisson à la vapeur de 87° C et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C, au manque de cuisson / à la cuisson irrégulière des cocons. On doit noter que dans le cas du manque de cuisson, la sérécine des couches du filament du cocon (points de croisement) ne ramollira pas correctement et uniformément, ce qui entraîne la présence de petites boucles dans la soie grège. De plus, en raison du manque de cuisson, les risques de la présence de petits bouchons / peluchage dans la soie grège pendant le dévidage sont plus importants, car les points de croisement du filament ne sont pas ramollis au niveau requis. Ils forment des défauts de netteté dans le fil.

### Propreté de la soie grège :

D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II), on peut observer que, l'influence de la température de cuisson, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement est significative par rapport à la propreté de la soie grège à un seuil de 1 %.

D'après la figure 2 et le Tableau I, on observe qu'une combinaison d'une température de cuisson à la vapeur de 97° C, d'une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C – 70° C donne une meilleure propreté de la soie grège par comparaison aux autres conditions et on l'attribue à un gonflement et à un amollissement uniformes et meilleurs de la sérécine dans tous les points de croisement du filament et dans les couches de la coque soyeuse. Tandis qu'une température de cuisson à la vapeur de 87° C avec les trois durées de cuisson à la vapeur et avec les deux profils de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C et de 96° C – 70° C a un effet très négatif sur la propreté de la soie grège. La propreté de 97,5 % (fig. 2) de la soie grège avec une combinaison d'une température de cuisson à la vapeur de 97° C, d'une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C passe à 88,5 % avec une température de cuisson à la vapeur de 87° C, une durée d'1 minute et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C – 70° C, ce qui est très significatif. On attribue cela au manque de cuisson des cocons et donc au gonflement et au ramollissement incorrects de la sérécine dans les points de croisement du filament des cocons.

On doit noter que dans le cas du manque de cuisson, la sérécine dans les points de croisement du filament et dans les couches dans les cocons ne sera pas ramollie correctement et uniformément ce qui entraîne la présence de boucles dans les filaments du cocon. De plus, en raison du manque de cuisson, les risques de laisser échapper un plus grand nombre de points de croisement (entre les couches du cocon) en une fois (sans déroulement) avec le filament pendant le dévidage sont plus importants, ce qui entraîne la formation de petits bouchons dans le fil. Ces défauts réduisent la propreté de la soie grège.

L'effet d'interaction (Tableau II) entre la température de cuisson à la vapeur et la durée de cuisson à la vapeur et entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement sur la propreté de la soie grège est significatif au seuil de 1 %. Tandis que celui entre la durée de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement sur la propreté de la soie grège est significatif au seuil de 5 %. L'effet d'interaction combiné entre la température de cuisson à la vapeur, la durée et le profil de température du traitement d'ajustement sur la propreté de la soie grège est aussi significatif au seuil de 1 %.

De plus d'après le Tableau I (valeurs DC), on observe que les différences de propreté de la soie grège entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C, de 92° C et de 97° C et entre des durées de cuisson à la vapeur de 1 minute et de 1,75 minutes et de 1 minute et de 2,5 minutes sont significatives au seuil de 1 %.

D'après l'analyse du ratio de contribution (Tableau III), on peut observer que la température de cuisson à la vapeur est plus importante par rapport à la propreté de la soie grège par comparaison aux autres paramètres de cuisson.

D'après la figure 2, on peut observer qu'une combinaison de température de cuisson à la vapeur de 97° C, d'une durée de cuisson à la vapeur de 2,5 minutes et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C a aussi diminué la propreté de la soie grège. On peut attribuer cela à une trop grande cuisson des cocons dans ces conditions avec une durée de cuisson à la vapeur de 2,5 minutes.

Dans le cas d'une sur-cuisson, en raison d'une température et d'une durée de cuisson trop élevées, les couches du cocon sont trop cuites et à cause de cela les points de croisement du filament du cocon sont trop ramollis et il y a donc plus de risques que de nombreux points de croisement s'agglutinent avec le filament et donc plus de formation de bouchons dans le fil. De plus, en raison de la sur-cuisson, les couches internes des cocons sont aussi trop ramollies. En raison de cela, les risques que les couches minces intérieures de la coque se rompent et s'échappent avec le fil sous la forme de bouchons sont plus élevés. Ce sont donc les raisons de la présence de plus de défauts de propreté chez les cocons trop cuits.

### **Ténacité et allongement :**

D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II), on peut observer que l'influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement sur la ténacité et l'allongement de la soie grège est significative au seuil de 1 %.

D'après les figures 3 et 4 et le Tableau I, on observe que la température de cuisson à la vapeur de 87° C donne une meilleure ténacité mais un mauvais allongement par comparaison aux autres températures de cuisson à la vapeur. D'après la figure 4, on peut observer qu'une température de cuisson à la vapeur de 87° C (avec une durée d'1 minute et de 1,75 minutes) et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C - 70° C ont un effet sur l'allongement de la soie grège. On attribue cela au manque de cuisson des cocons. On doit noter que quand les cocons ne sont pas assez cuits en raison du ramollissement incorrect ou insuffisant de la sérécine des points de croisement du filament dans les couches du cocon, la tension de déroulement du filament sera plutôt élevée. La tension plus élevée de déroulement du filament augmente à son tour avec la tension générale. En raison de l'augmentation de la tension de dévidage il se produit une orientation des fibrilles dans la fibroïne du filament du cocon. La meilleure orientation des fibrilles de la fibroïne entraîne une augmentation de la ténacité et une baisse de l'allongement de la soie grège. De plus, on peut s'attendre à ce que le stress qui se développe pendant le dévidage de la soie grège des cocons manquant de cuisson soit plus élevé que le stress de la soie grège des cocons mieux cuits en raison de la tension de dévidage plus élevée des cocons manquant de cuisson. Donc l'allongement de la soie grège des cocons manquant de cuisson est moins important que l'allongement de la soie grège des cocons mieux cuits.

D'après les figures 3 et 4 et le Tableau I, on peut aussi voir que la température de cuisson à la vapeur de 97° C et le profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C donnent une ténacité et un allongement meilleurs de la soie grège. On attribue cela à la bonne cuisson des cocons, ce qui entraîne un gonflement et un amollissement des points de croisement du filament de sérécine et des couches du filament du cocon au niveau requis.

D'après le Tableau (valeurs DC), on peut observer que les différences de ténacité de la soie grège entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C, de 92° C et de 97° C sont significatives au seuil de 1 % ; tandis qu'entre une température de cuisson à la vapeur de 87° C et de 97° C, cela n'est pas significatif. De plus, les différences de ténacité de la soie grège entre une durée de cuisson à la vapeur de 1 min et de 1,75 min ne sont pas significatives ; tandis que entre 1 min et 2,5 min et entre 1,75 min et 2,5 min elles sont significatives au seuil de respectivement 1 % et de 5 %.



En outre, d'après le Tableau I (valeurs DC), on peut observer que les différences d'allongement de la soie grège entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C, de 92° C et de 97° C et entre des durées de cuisson à la vapeur d'1 minute, d'1,75 minutes et de 2,5 minutes sont significatives au seuil de 1 %.

Par ailleurs, d'après les résultats de l'analyse du ratio de contribution (Tableau III), on observe que la contribution du profil de température du traitement d'ajustement est plus importante pour la ténacité de la soie grège tandis que la contribution de la température de cuisson à la vapeur est plus importante pour l'allongement de la soie grège par comparaison aux autres facteurs.

### **Cohésion de la soie grège :**

D'après les résultats de l'analyse de variance (Tableau II), on observe que l'influence de la température de cuisson à la vapeur, de la durée de cuisson à la vapeur et du profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative (au seuil de 1 %) sur la cohésion de la soie grège. En outre, les effets de l'interaction entre la température et la durée de cuisson à la vapeur, entre la température de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement et entre la durée de cuisson à la vapeur du cocon et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative (au seuil de 1 %) sur la cohésion de la soie grège.

D'après la figure 5 et le Tableau I, on observe qu'une combinaison de température de cuisson à la vapeur de 97° C, d'une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C donne la meilleure cohésion de la soie grège par comparaison aux autres conditions. Cela peut être attribué au meilleur degré de gonflement et d'amollissement uniformes de la sérécine dans le filament des couches de la coque soyeuse dans ces conditions.

D'après la figure, on peut aussi voir qu'une température de cuisson à la vapeur de 87° C, une durée de cuisson à la vapeur d'1 minute et de 1,7 minutes et un profil de température du traitement d'ajustement de 94° C - 70° C affectent la cohésion de la soie grège et donnent une très mauvaise cohésion. Cela peut être attribué au manque de cuisson des cocons.

On doit noter que quand les cocons sont cuits correctement, la sérécine du filament gonfle et s'amollit au niveau requis. Quand les filaments des cocons passent par une croisure d'une bonne longueur pendant le dévidage, l'agglutination requise du filament se produit dans le fil de soie grège et entraîne donc une bonne cohésion de la soie grège.

Tandis que quand les cocons ne sont pas assez cuits, la sérécine des filaments du cocon ne gonfle pas et ne s'amollit pas au niveau requis, ce qui entraîne une mauvaise agglutination des filaments du fil de soie grège. Cela entraîne une mauvaise cohésion de la soie grège bien qu'il y ait une pression d'agrégation suffisante exercée sur le fil en mettant une bonne longueur de croisure (de 8 - 10 cm) pendant le dévidage.

D'après les valeurs DC (Tableau I), on peut voir que les différences de cohésion de la soie grège entre des températures de cuisson à la vapeur de 87° C, de 92° C et de 97° C et entre des durées de cuisson à la vapeur de 1 min., 1,75 min. et 2,5 minutes sont significatives au seuil de 1 %.

D'après le tableau sur l'analyse du ratio de contribution, on peut observer que la température de cuisson à la vapeur joue un rôle dominant sur la cohésion de la soie grège par comparaison aux autres paramètres. Les résultats corroborent les observations de travaux précédents (Subhas, 1995).

D'après la figure 5, on peut observer qu'une combinaison de température de cuisson de 97° C et d'un profil de température du traitement d'ajustement de 96° C - 70° C donne comparativement une cohésion inférieure de la soie grège avec une durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min. par comparaison à une durée de cuisson à la vapeur de 1 min. Cela pourrait être attribué à un trop grand ramollissement de la sérécine (avec une durée de cuisson à la vapeur de 2,5 min.) et donc à une dissolution comparativement plus importante (que la norme habituelle) de la sérécine pendant la cuisson.

## CONCLUSION

La température et la durée du traitement de cuisson à la vapeur et le profil de température du traitement d'ajustement ont une influence significative sur les caractéristiques qualitatives de la soie grège. D'après les résultats et les discussions ci-dessus, il devient clair qu'après la pénétration de la quantité d'eau requise dans le cocon et dans la coque soyeuse pendant le pre-traitement de cuisson du cocon, il est essentiel de cuire les cocons en utilisant une température de cuisson à la vapeur plus élevée de 97° C – 98° C (pour fournir l'énergie calorifique requise) pendant le traitement de cuisson pour obtenir les meilleures caractéristiques qualitatives de la soie grège. Les résultats indiquent aussi qu'il est avantageux d'utiliser une température initiale plus élevée pour le traitement d'ajustement du point de vue de la qualité de la soie grège. Mais on doit noter que quand on sélectionne des températures plus élevées, les risques d'un trop grand ramollissement de la couche externe sont plus importants et cela doit être contrôlé en sélectionnant une cuisson à la vapeur et des processus d'ajustement adaptés (dépendant de la qualité du cocon)

D'après les résultats, on peut déduire que la température de cuisson à la vapeur plus élevée de 97° C – 98° C et un profil de température de 96° C – 70° C pour le traitement d'ajustement avec des durées adaptées (dépendant de la qualité du cocon) sont essentiels pour produire une soie grège de qualité supérieure à partir de cocons bivoltins hybrides de la race CSR.

**DOUBLE PHASE PLANTING, AN EFFECTIVE TECHNIQUE, FOR REGENERATING HARD TO ROOT *TERMINALIA ARJUNA* (BEDD) AND *TERMINALIA TOMENTOSA* (W & A), THE TWO PRIMARY FOOD PLANTS OF TROPICAL TASAR SILKWORM I. E. *ANTHERAEA MYLITTA* D.**

**P. S. SINHA, M. C. JOSHI, S. BECK, A. GANGOPADHYAY, A. K. SINHA & B.R.R.P. SINHA.**

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

*Terminalia arjuna* (Bedd) and *Terminalia tomentosa* (W&A), the two primary food plant of tropical tasar silkworm i.e. *Antheraea mylitta* D., have poor natural regeneration, are slow growing and fall amongst "very difficult to root" plant species. Efforts were on to regenerate these two species through cuttings, for last decades at Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, India, but appreciable success was achieved only recently when a protocol was suggested that is needed to be followed with mother plant for getting more than 80% regeneration, however simple regeneration of these species through naturally available tree cuttings is still very difficult if not impossible. The paper brings forth a technique named "Double phase planting" which is quite effective in preparing new plants, through clonal propagation, using hard tree cutting of *T. arjuna* and *T. tomentosa*. This technique is faster multiplier as from one cutting 3 – 4 or even more plants can be prepared. The added advantage of the technique is that mother cuttings (original planting material) can well be transported without fear of desiccation as this is in the form of mature hard wood cuttings and at the same time new plantlets can easily be prepared as soft sprouts, which are easy to root, are being put to root for preparing new plantlets.

**Keywords:** Double phase planting, Single phase planting, Rhizogenesis, Regeneration, Rooting percent, Sprouts, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*.

## INTRODUCTION

*Terminalia arjuna* (Bedd) and *Terminalia Tomentosa* (W&A), the two tree species of genus *Terminalia*, are extensively distributed in the tropical forest of India, Pakistan, Indonesia, Myanmar and of the United States. Both species are valuable due to their medicinal and soil conservation properties. The two species add a large quantity of organic matter and are considered backbone of tasar silk industry because rearing of tasar silkworm is done mostly on them. Both species, however, have poor natural regeneration, (because of poor seed germination) are slow growing and fall amongst "Very difficult to root (through cutting)" plant species. Efforts were on, to regenerate these through cuttings for last few decades at Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi but appreciable success in this direction was achieved only a few years ago when Sinha *et. al.* (2001) suggested a protocol which needs to be followed with mother plant for getting more than 80% regeneration. However, simple regeneration of these species through naturally available tree cuttings is still difficult. Rooting of cuttings largely depends upon anatomical, physiological and biochemical

conditions of mothers plants. Many internal factors (Bose *et. al.*, 1991) and physiological conditions (Hartmann and Kester 1986) greatly influence rooting. Sinha *et. al.*, (2001) have indicated chemo-mechanical inhibition of rooting in *T. tomentosa*.

The present study was made with a view to develop technique to regenerate, *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa* using naturally available tree cuttings. This is vital not only for faster easy and true to type multiplication of these species but also for development of superior varieties for related industries like tasar industry, to bring down the too long gestation period and to have uniform plantation for uniform rearing. This will be of special significance for multiplication of desired identified trees and for establishing a germplasm, by bringing the cuttings of various genotypes from various parts of world /distant places through explorations etc. for future study.

## MATERIALS AND METHODS

The planting material selected for the experimentation was (1) Juvenile cuttings (cuttings having apical node and two unfurled leaves of natural sprouts) and (2) Hard wood cutting (standard pencil thickness cutting taken from 3 months old branches) of 20 years old *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa* trees.

The rooting media was plain sterile sand. These cuttings were planted in polybags of 30 cm × 10 cm, filled with rooting media i.e. sterile sand and kept in sub soil pits of 2 M × 1M × 1M, duly covered with transparent polysheet. In sub soil pits, RH of approx 80-85% was maintained by sprinkling water, 2-3 times a day. Regular observations were recorded on rooting and sprouting. These cuttings sprouted within 10-15 days. After sprouting a suitable number of cuttings were allowed to continue as such, while from rest, sprouts of about 4-5 days of age were cut from base, using a sharp blade and replanted as "Juvenile cuttings" in polybags, filled with rooting mixture and put for rooting in sub soil pits. It is mentioned that from each cutting many sprouts came out, so more than one juvenile cutting were prepared per hard wood cutting. Equal number of sprouts from tree itself were also planted in the same manner.

The set in which pencil thickness cuttings were allowed to continue for rooting was treated as one treatment and designated as Hard wood single phase planting (HWSSP). The second set in which sprouts from tree cuttings were planted was treated as another treatment and designated as Double phase planting (DPP). The hard woodcuttings from where sprouts were incised were named as mother cuttings.

The set in which sprouts from old trees were planted as juvenile cuttings (comparable with the sprouts of DPP) was treated as third treatment and designated as Juvenile single phase planting (JSPP). Seven replicates of each treatment were maintained. Regular observations were recorded on root initiation.

In a separate experiment efficacy of hard wood cuttings, stored for different durations, for their rootability through DPP was determined. Cuttings were stored for three different durations i.e. 24 hrs, 48 hrs and 72 hrs. and then their rootability was studied in a manner described above.

In yet another experiment, sprouts from mother cuttings of *T. arjuna* and *T. tomentosa* were treated with five different concentrations of indole acetic acid (IAA) i.e. 25, 50, 75, 100, 300 and 500 ppm, using quick dip method and their rootability was studied in a manner described above.

## RESULTS AND DISCUSSIONS

The findings of the three experiments are presented in figs 1 and 2 and Tables I, II and III. Perusal of fig. 1 clearly shows that DPP is effective in inducing rhizogenesis in sprouts (treated equivalent to juvenile cuttings) from hard woodcuttings of old trees, giving an average value of 29.04% and 15.7% and maximum value of 48.96% and 35.7% rooting in *T. arjuna* and *T. tomentosa* respectively, against nil rooting in their SPP counterparts. This is evident from Table I that DPP is more effective even in



comparison to Juvenile cuttings of tree origin (comparable with sprouts of DPP) as an average of 29.04% and 15.7% rooting was achieved by DPP against 1.02 and 0% rooting by JSPP in *T. arjuna* and *T. tomentosa* respectively. Rooting time with DPP was also comparatively lower. This can also be seen from Table that efficacy of DPP varied with different periods of months. April – June periods which are mainly summer were not conducive for DPP in both species. Oct. – Dec. period, when winter is setting in, was found quite conducive, giving 48.9% and 35.7% rhizogenesis in *T. arjuna* and *T. tomentosa* respectively. Oct – Dec. period was followed by July – Sept. (which are mainly rainy) when 38.7% and 27.1% rooting in *T. arjuna* and *T. tomentosa* respectively was achieved. During Jan. – March period, rhizogenesis was observed in *T. arjuna* only, however it is comparatively lower (28.57% only).

**Table I. Efficacy of double phase planting (DPP) in bringing out rhizogenesis in cuttings of *T. arjuna* and *T. tomentosa* during different periods.**

*Tableau I. Efficacité de la plantation en deux étapes (DPP) pour provoquer la rhizogenèse de boutures de T. arjuna et de T. tomentosa à différentes périodes.*

Species Period	System / Système						Average Moyenne	
	HWSPP*		JSPP**		DPP***		RP (%)	RT (days)
	RP**** (%)	RT***** (days)	RP (%)	RT (days)	RP (%)	RT (days)		
<i>T. arjuna</i>								
Jan-Mar	0.00	NA	0.00	NA	28.57	35.00	9.52	35.00
Apr-Jun	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA
Jul-Sep	0.00	NA	0.00	NA	38.70	30.00	12.90	30.00
Oct-Dec	0.00	NA	4.08	41.0	48.9	32.00	17.66	36.50
Pooled /Ensemble	0.00	NA	1.02	41.0	29.04	32.33		
<i>T. tomentosa</i>								
Jan-Mar	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA
Apr-Jun	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA
Jul-Sep	0.00	NA	0.00	NA	27.10	34.00	9.03	34.00
Oct-Dec	0.00	NA	0.00	NA	35.70	35.3	11.90	35.30
Pooled/Ensemble	0.00	NA	0.00	NA	15.70	17.32		
<b>CD at 5%/ Seuil à 5 %</b>			<i>T. arjuna</i>				<i>T. tomentosa</i>	
For planting system			2.85				2.04	
<i>Pour le système de plantation</i>								
For period : <i>Pour la période</i>			3.31				2.31	
For system × period			6.72				6.10	
<i>Pour le système × période</i>								

\*HWSPP: Hard wood Single Phase Planting / *Plantation de bois dur en une étape.*

\*\*JSPP: Juvenile Single Phase Planting / *Plantation juvénile en une étape.*

\*\*\* DPP: Double Phase Planting / *Plantation en deux étapes.*

\*\*\*\* RP: Rooting Percentage / *Pourcentage de racinement.*

\*\*\*\*\* RT: Rooting Time / *Délai de racinement.*

**Table II.** Efficacy of auxin in bringing out rhizogenesis through DPP, in *T.arjuna* and *T. tomentosa*.

**Tableau II.** Efficacité de l'auxine pour provoquer la rhizogénèse par DPP, chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*.

Auxin level (ppm)	<i>T. arjuna</i>		<i>T. tomentosa</i>	
	RP	RT	RP	RT
0	48.1	32.3	34.7	38.7
25	0.0	NA	0.0	NA
75	0.0	NA	0.0	NA
100	0.0	NA	0.0	NA
300	0.0	NA	0.0	NA
500	0.0	NA	0.0	NA

**Table III.** Efficacy of double phase planting (DPP) as influenced by storage of planting material.

**Tableau III.** Efficacité de la plantation en deux étapes (DPP) lors du stockage du matériel de plantation.

Species	Storage time	Rooting percentage	Rooting time	CD at 5%	
	(hrs)	(%)	(days)	Rooting %	Rooting Time
Espèce	Durée de stockage	% de racinement	Délai de racinement	Seuil à 5 %	
	(hrs)	(%)	(jours)	% de racinement	Délai de racinement
<i>T. arjuna</i>	0	28.5	34.4	9.57	0.67
	24	22.8	35.2		
	48	28.5	37.4		
	72	25.7	35.4		
<i>T. tomentosa</i>	0	22.5	38.2	15.57	1.27
	24	20.0	40.1		
	48	25.7	37.2		
	72	22.8	37.8		

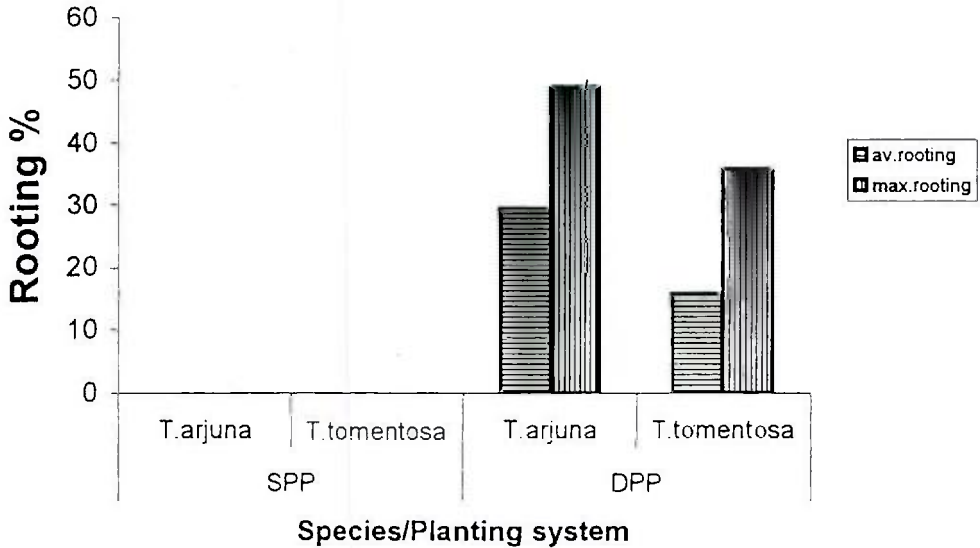


Fig. 1. Efficacy of DPP in bringing out rhizogenesis.

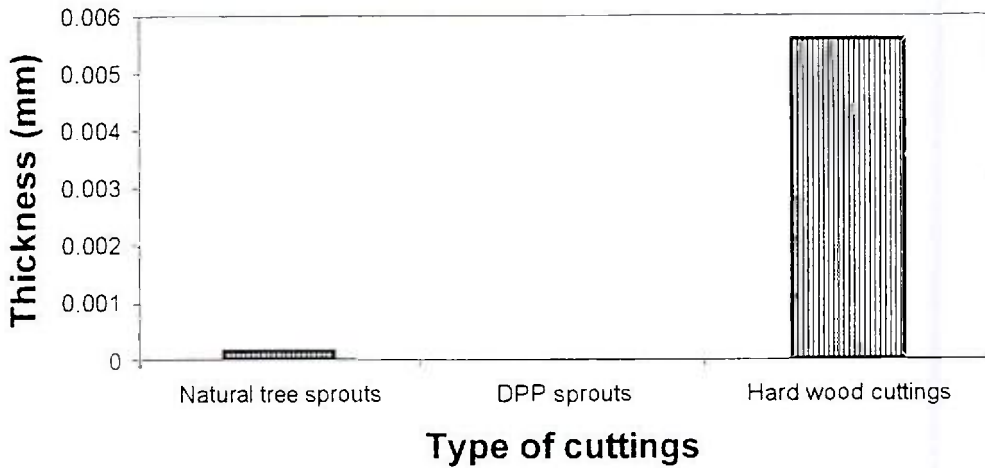
Fig. 1. Efficacité de la DPP pour provoquer la rhizogénèse.

Rooting through 'DPP' appears to be governed by two main factors. The first one is the absence of mechanical tissues. It has been found that in *T. arjuna* the hard layer of sclerenchymatous and collenchymatous tissues surrounding the vascular bundles serve as a mechanical barrier (Sinha *et al.* 2000). These tissues are totally absent in DPP sprouts (fig. 2), however these are sparingly present in juvenile cuttings used in Juvenile SPP and are heavily present in hard wood SPP.

Another reason for inducing rooting through 'DPP' may be physiochemical status e.g. absence of root inhibitors or presence of root inducing substance. Molnor and La Croix (1972) reported increase in enzyme activity in the phloem and ray cells of vascular bundles and then a shift of enzyme activity from vascular tissues to periphery of bundles, two – three days after cutting is made; Haissig (1973) opined that lack of root initiation in response to applied auxin or native auxin may be due to lack of enzyme to synthesise the root inducing auxin – phenol conjugate and lack of enzyme activator. Many internal factors like age of stock plant, nutritional and hormonal conditions of plant, maturity of tissues, light temperature water etc. are reported to influence rooting (Bose *et al.*, 1975). Hartmann and Kester (1986) have also opined that type of cuttings, growth hormones, the time of year when cuttings are taken, age of mother plant and several other factors play a significant role in induction of roots from cuttings.

Absence of rooting in HWSPP appears to be mainly due to mechanical inhibition and physiochemical changes occurring consequently to the making of cutting which are masked by mechanical tissues. In JSPP, cuttings decay or lose their food material before they attain a suitable physiochemical status, conducive for rooting. In DPP, hard wood cuttings soon after planting start creating suitable physiochemical status, conducive for rooting and replanting the sprouts as juvenile

cuttings immediately send out the roots as their physiochemical status is conducive and at the same time mechanical inhibition is not there, as mechanical tissues are not developed.



**Fig. 2. Thickness of collenchymatous / sclerenchymatous layers in natural tree sprouts, DPP sprouts and hardwood cuttings.**

*Fig. 2. Epaisseur des couches collenchymateuses / sclérenchymateuses dans les pousses naturelles d'arbres, les pousses DPP et les boutures de bois dur.*

Perusal of Table II suggests that IAA which is known to promote rooting in many plants (Kraus *et. al.*, 1936; Thimann and Koeffli, 1935; Kumar *et. al.*, 1982) has not favoured rhizogenesis in DPP, it rather inhibited it. This is probably due to reaching the auxins to supra-optimal level as shoot tips are known to have higher level of endogenous auxins.

Table III depicts the effect of storage of mother cuttings for various durations on efficacy of DPP. This can be seen from the Table that efficacy of DPP (as measured by rooting %) was not significantly influenced by storing mother cuttings for various durations, upto 72 hrs, both in *T. arjuna* and *T. tomentosa*. The findings suggest that mother cuttings can well be utilised even 3 days after making cuttings for DPP. Three days (72 hrs.) is generally the average time for making, transporting and utilizing the cuttings.

The foregoing discussion clearly suggests that DPP is quite effective for preparing new plantlets through clonal propagation using hard wood cuttings from tree, both of *T. arjuna* and *T. tomentosa*, the two very difficult to root plant species. It is a much faster multiplier as from one standard cuttings 3 – 4 plants can be prepared. The mother cuttings can safely be transported without fear of desiccation as these are hard wood cuttings, and at the same time plantlets are easy to prepare as soft tender cuttings (sprouts) are put to root. There is ample scope for further improvement of this technique by further experimentation and other hard to root plants can also be brought under experimentation for this technique.



## REFERENCES

- BOSE T.K., MUKHERJEE T.P. & ROY T. (1975) Standardization under mist, effect of type of wood and size of cutting on the root formation. The Punjab Hort. J. 15(3 & 4): 139 -143.
- HAISSIG (1973) Influence of hormones and auxin synergists on adventitious root initiation. In proc IUFRO Working Party on Reprod Processes. Rotoura, New Zealand.
- HARTMANN H.T. & KESTER D. E. (1986) General aspects of asexual propagation In "Plant propagation principles and practices" Prentice Hall of India, Pvt. Ltd. New Delhi, pp 199-234.
- KUMAR N., VADIVEL B. & SAMPATH V. (1982) Rosemary propagation as affected by growth regulators. National Seminar on Plant Propagation Dec. 27 – 29, 1982, pp 43, Department of Horticulture, Bidhan Chandra Krishi Viswa Vidhyalaya and The Society for Advancement of Horticulture. Kalyani, West Bengal, India.
- KRAUSE J., BROWN N.A. & HAMMER K.C. (1936) Histological reaction of bean plants to indole acetic acid. Bot. Gaz. 98:370 – 420.
- MOLNOR, J.M. & LA CROIX (1972) Studies of the rooting of cuttings of *Hydrangea macrophylla* Enzyme change. Can. Jour. Bot. 50 (2):315 – 22.
- SINHA P.S., KHARE R., JOSHI M.C., BECK, S., GANGOPADHYAY A., SINHA A.K. & SINHA B.R.R.P. (1999) Mechanical barrier to rooting in *Terminalia arjuna* Bedd. Curr. Tech. Sem. on Non Mul. Seri. 15<sup>th</sup> march 1999, Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, India.
- SINHA P.S., JOSHI M.C., BECK, S., GANGOPADHYAY A., SINHA A.K. & THANGAVELU K. (2000) Chemo mechanical inhibition in regeneration of *Terminalia tomentosa* (W&A) through cuttings – A breakthrough. Curr. Tech. Sem. Recent trends in tasar culture, 18-19 Oct. 2000, CTR&TI, Nagri, Ranchi, India.
- SINHA P.S., JOSHI M.C., BECK S., KHARE R., GANGOPADHYAY A., SINHA A.K., SINHA, B.R.R.P. & THANGAVELU K. (2001) Identification and tackling the factor, hindering the regeneration of *Terminalia arjuna* through cuttings – A breakthrough. Sericologia, France. 41(2) 291 – 295.
- THIMANN K.V. & KOEPFLI J.B. (1935) Identity of the growth promoting and root forming substance of plant, Nature 135:101 – 102.

**PLANTATION EN DEUX PHASES, UNE TECHNIQUE EFFICACE DE REGENERATION DE *TERMINALIA ARJUNA* (BEDD) ET DE *TERMINALIA TOMENTOSA* (W & A) LES DEUX PLANTES HOTES DU VER A SOIE TASAR TROPICAL, *ANTHERAEA MYLITTA* D. A RACINEMENT DIFFICILE**

**P. S. SINHA, M. C. JOSHI, S. BECK, A. GANGOPADHYAY, A. K. SINHA & B. R. R. P. SINHA**

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

*Terminalia arjuna* (Bedd) et *Terminalia tomentosa* (W & A), les deux plantes hôtes principales du ver à soie tasar tropical, c'est à dire *Antheraea mylitta* D., ont une mauvaise régénération naturelle, poussent lentement et entrent dans la catégorie des espèces de plantes " très difficiles à raciner ". Des efforts ont été entrepris pendant les dernières décennies pour régénérer ces deux espèces par des boutures au **Central Tasar Research and Training Institute**, de Nagri, à Ranchi, en Inde mais on n'a obtenu un succès appréciable que récemment quand on a suggéré un protocole qu'il est nécessaire de suivre avec la plante mère pour obtenir plus de 80 % de régénération, par contre la simple régénération de ces espèces avec des boutures disponibles naturellement est très difficile sinon impossible. Cet article présente une technique appelée " plantation en deux phases " qui est très efficace pour préparer de nouveaux plants, par multiplication clonale, en utilisant des boutures ligneuses de *T. arjuna* et de *T. tomentosa*. Cette technique permet une multiplication plus rapide puisque à partir d'1 bouture, on peut préparer 3 à 4 plants ou plus. L'autre avantage de cette technique est que les boutures mères (matériel de plantation original) peuvent être transportées sans problème sans crainte de dessiccation puisqu'elles se présentent sous la forme de boutures mures de bois dur et qu'on peut au même moment facilement préparer de nouveaux plants en mettant à raciner des pousses tendres à racinement facile, pour obtenir de nouveaux plants.

**INTRODUCTION**

*Terminalia arjuna* (Bedd) et *Terminalia tomentosa* (W & A), les deux espèces d'arbres du genre *Terminalia* sont largement distribuées dans les forêts tropicales de l'Inde, du Pakistan, de l'Indonésie, du Myanmar et des Etats Unis. Ces deux espèces sont précieuses en raison de leurs propriétés médicinales et parce qu'elles permettent la conservation du sol. Les deux espèces apportent une grande quantité de matières organiques et on les considère comme la colonne vertébrale de l'industrie de la soie tasar parce que l'élevage du tasar se pratique principalement sur elles. Cependant, ces deux espèces ont une mauvaise régénération naturelle (parce que leurs graines germent mal), poussent lentement et rentrent dans la catégorie des espèces de plantes " très difficiles à raciner (par bouturage) ". Des efforts ont été entrepris pendant les dernières décennies au *Central Tasar Research and Training Institute* à Ranchi pour les régénérer à partir de boutures mais on n'a obtenu un succès appréciable dans ce domaine que depuis quelques années quand Sinha et coll., (2001) ont suggéré un protocole qu'il faut suivre avec la plante mère pour obtenir plus de 80 % de régénération. La simple

régénération de ces espèces par des boutures disponibles à l'état naturel est encore difficile. Le racinement des boutures dépend en grande partie des conditions anatomiques, physiologiques et biochimiques des plantes mères. Le racinement est considérablement influencé par de nombreux facteurs internes (Bose et coll., 1991) et par les conditions physiologiques. Sinha et coll., (2001) ont observé une inhibition chimio-mécanique du racinement chez *T. tomentosa*.

Cette étude a été réalisée dans le but de mettre au point une technique pour régénérer *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa* en utilisant des boutures naturellement disponibles. Cela est vital non seulement pour une multiplication plus rapide, facile et conforme de ces espèces mais aussi pour la mise au point de variétés supérieures pour les industries associées comme l'industrie tassar, pour réduire la trop longue période de gestation et pour obtenir des plantations uniformes pour un élevage uniforme. Cela revêt une importance particulière pour la multiplication d'arbres identifiés et pour établir une banque génétique, grâce aux boutures de génotypes variés provenant de diverses parties du monde / d'endroits éloignés pour des études futures.

## MATERIELS ET METHODES

Les matériels de plantation sélectionnés pour l'expérimentation sont (1) des boutures juvéniles (des boutures ayant un nœud apical et présentant deux feuilles déployées à partir de bourgeons naturels) et (2) des boutures de bois dur (boutures d'épaisseur normale de la taille d'un crayon prises sur des branches de 3 mois) d'arbres de *Terminalia arjuna* et de *Terminalia tomentosa* âgés de 20 ans.

Le milieu de racinement est du sable stérile ordinaire. Ces boutures sont plantées dans des sacs en plastique de 30 cm × 10 cm, remplis avec un milieu de racinement, c'est à dire du sable stérile et placés dans des sillons de 2 m × 1 m × 1 m, recouverts avec une feuille de plastique transparent. On maintient une H. R. d'approximativement 80 à 85 % dans les sillons recouverts en vaporisant de l'eau, 2 à 3 fois par jour. On enregistre les observations régulières sur le racinement et le bourgeonnement. Ces boutures déboutent en l'espace de 10 à 15 jours. Après le débouillage, on laisse un nombre approprié de boutures se développer telles quelles tandis qu'on coupe des pousses d'environ 4 à 5 jours à partir de la base sur le reste en utilisant une lame acérée, que l'on replante en tant que "boutures juvéniles" dans des sacs en plastique, remplis avec un mélange de racinement et que l'on met à raciner dans des sillons recouverts. De chaque bouture sortent de nombreuses pousses, on prépare donc plus d'une bouture juvénile par bouture de bois dur. On plante aussi un nombre égal de pousses de l'arbre lui-même de la même manière.

Le lot où on laisse les boutures de l'épaisseur d'un crayon continuer à raciner est désigné comme "plantation de bois dur en une phase" (HWSSP). Le deuxième lot où on plante les pousses de boutures d'arbre est désigné comme plantation en deux phases (DPP). Les boutures de bois dur à partir desquelles les pousses sont incisées sont nommées "boutures mères".

Le lot où on plante des pousses provenant de vieux arbres comme des boutures juvéniles (comparables aux pousses DPP) est considéré comme un troisième traitement et désigné "plantation juvénile en une phase" (JSPP). On maintient sept répétitions pour chaque traitement. On enregistre régulièrement les observations sur l'ébauche des racines.

Dans une expérience séparée, on détermine l'efficacité des boutures de bois dur, stockées pendant des durées différentes, c'est à dire 24 heures, 48 heures et 72 heures puis on étudie leur racinement de la manière décrite ci-dessus.

Dans une autre expérience, des pousses provenant de boutures mères de *T. arjuna* et de *T. tomentosa* sont trempées rapidement dans cinq concentrations différentes d'acide indole acétique (IAA), c'est à dire 25, 50, 75, 100, 300 et 500 ppm et on étudie leur racinement de la manière décrite ci-dessus.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les observations de ces trois expériences sont présentées dans les figs. 1 et 2 et dans les Tableaux I, II et III. L'examen de la fig. 1 montre clairement que le DPP est efficace pour induire la rhizogenèse chez les pousses (traitées comme des boutures juvéniles) à partir de boutures de bois dur provenant de vieux arbres, ce qui donne une valeur moyenne de 29,04 % et de 15,7 % et une valeur maximum de 48,96 % et de 35,7 % de racinement chez respectivement *T. arjuna* et *T. tomentosa* contre un racinement nul chez leurs homologues SPP. Il est évident d'après le Tableau I que la DPP est plus efficace même par comparaison aux boutures juvéniles provenant d'arbres (comparables aux pousses de la DPP) puisqu'on obtient une moyenne de racinement de 29,04 % et de 15,7 % avec la DPP contre 1,02 et 0 % de racinement avec la JSPP respectivement chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*. La durée de racinement est aussi comparativement plus courte avec la DPP. On peut aussi voir d'après le Tableau que l'efficacité de la DPP varie en fonction des mois. Les périodes d'avril-juin qui correspondent principalement à l'été ne sont pas propices pour la DPP chez les deux espèces. On trouve que la période d'octobre à décembre, quand l'hiver s'installe, est très propice et donne respectivement 48,9 % et 35,7 % de rhizogénese chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*. La période d'octobre – décembre est suivie par juillet – septembre (qui sont principalement pluvieux) pendant laquelle on obtient respectivement un racinement de 38,7 et de 27,1 % chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*. Pendant la période de janvier – mars, on observe seulement une rhizogenese chez *T. arjuna*, cependant elle est comparativement plus faible (28,57 % seulement).

Le racinement par " DPP " semble être gouverné par deux facteurs principaux. Le premier est l'absence de tissus mécaniques. Il s'avère que chez *T. arjuna* la couche dure de tissus sclérenchymateux et collenchymateux qui entoure les faisceaux vasculaires sert de barrière mécanique (Sinha et coll., 2000). Ces tissus sont totalement absents dans les pousses DPP (fig. 2), cependant, ils sont présents en faible quantité dans les boutures juvéniles utilisées dans la SPP juvénile et sont très présents dans le bois dur avec la SPP.

Une autre raison d'induction du racinement par DPP pourrait être due à l'état physiochimique, c'est à dire à l'absence d'inhibiteurs des racines ou à la présence d'une substance induisant les racines. Molnor et La Croix (1972) ont rapporté une augmentation de l'activité enzymatique dans les cellules du phloème et du rayon des faisceaux vasculaires et un déplacement de l'activité enzymatique des tissus vasculaires à la périphérie des faisceaux, deux à trois jours après avoir fait la bouture ; Haissig (1973) a émis l'opinion que l'absence d'ébauche de racine suite à l'application d'auxine ou avec l'auxine native pourrait être due au manque d'enzyme pour synthétiser l'auxine induisant la racine – le conjugat de phénol – et au manque d'activateur de l'enzyme. On a rapporté que de nombreux facteurs internes comme l'âge de la plante souche, les conditions nutritionnelles et hormonales de la plante, la maturité des tissus, la lumière, la température, l'eau influencent le racinement (Bose et coll., 1975). Hartmann et Kester (1986) ont aussi émis l'idée que le type de boutures, les hormones de croissance, la période de l'année pendant laquelle on prend les boutures, l'âge de la plante mère et plusieurs autres facteurs jouent un rôle significatif dans l'induction de racines à partir de boutures.

L'absence de racinement pour HWSPP semble être principalement due à l'inhibition mécanique et aux changements physiochimiques qui se produisent suite à la préparation des boutures qui sont masquées par les tissus mécaniques. Pour JSPP, les boutures pourrissent ou perdent leur matière nutritive avant qu'elles n'atteignent un état physiochimique correct, propice au racinement. Avec la DPP, les boutures de bois dur peu après la plantation commencent à créer un état physiochimique propice au racinement et la replantation des pousses comme boutures juvéniles fait immédiatement sortir les racines puisque leur état physio-chimique est propice et qu'en même temps il n'y a pas d'inhibition mécanique puisque les tissus mécaniques ne se développent pas.

L'observation du Tableau II suggère que l'IAA qui induit le racinement chez de nombreuses plantes (Kraus et coll., 1936 ; Thimann et Koefli ; Kumar et coll., 1982) n'a pas favorisé la rhizogenese avec la DPP, elle l'a plutôt inhibée. Cela est probablement dû à ce que le niveau des auxines est



sur-optimal puisqu'on sait que les extrémités des racines ont un niveau plus élevé en auxines endogènes.

Le Tableau III montre l'effet du stockage des boutures mères pendant des durées variées sur l'efficacité de la DPP. On peut voir d'après le Tableau que l'efficacité de la DPP (mesurée d'après le % de racinement) n'est pas influencée de manière importante par le stockage des boutures mères pendant des durées variées, jusqu'à 72 heures, à la fois chez *T. arjuna* et *T. tomentosa*. Les observations suggèrent qu'on peut parfaitement utiliser les boutures mères même 3 jours après la réalisation des boutures avec la DPP. En général, la période moyenne pour réaliser, transporter et utiliser les boutures est de trois jours (72 heures).

Cette discussion suggère clairement que la DPP est très efficace pour préparer de nouveaux plants par multiplication clonale en utilisant des boutures de bois dur d'arbres à la fois de *T. arjuna* et de *T. tomentosa*, les deux espèces de plantes très difficiles à raciner. Cela permet une multiplication plus rapide puisqu'à partir d'une bouture ordinaire, on peut préparer 3 à 4 plants. On peut transporter les boutures mères sans crainte et sans risque de dessiccation puisque ce sont des boutures de bois dur et on peut facilement préparer en même temps des plants puisque l'on met des boutures tendres et souples (pousses) à raciner. Il existe de grandes possibilités d'amélioration de cette technique par des expérimentations supplémentaires et on pourrait aussi l'utiliser avec d'autres plantes difficiles à raciner.

## BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

<b>Sériciculture générale</b> . . . . .	<b>433</b>
General sericulture	
<b>Mûrier</b> . . . . .	<b>437</b>
Mulberry	
<b><i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie</b> . . . . .	<b>443</b>
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
<b>Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie</b> . . . . .	<b>449</b>
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
<b>Vers à soie : génétique</b> . . . . .	<b>451</b>
Silkworms: genetics	
<b>Vers à soie : physiologie, biochimie</b> . . . . .	<b>457</b>
Silkworms: physiology, biochemistry	
<b>Vers à soie : oeufs, embryologie</b> . . . . .	<b>467</b>
Silkworms: eggs, embryology	
<b>Vers à soie : glandes séricigènes.</b> . . . .	<b>469</b>
Silkworms: silk glands	
<b>Soie</b> . . . . .	<b>473-</b>
Silk	

### INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

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

## Sériculture générale

### General sericulture

#### **Stabilizing second cocoon crop in autumn.**

BAKSHI R.L., SAXENA N.N., CHARAK R.K., MISRI S.S., KHAN M.A.  
RSRS, Miransahib, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(4), 9-11. (E)*

#### **Interpreted farming in mulberry cultivation - An eco-friendly approach.**

BHOGESHA K., DAS P.K., RAJANNA L.  
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(5), 5-7. (E)*

#### **Advances in the study and development of medical uses of sericulture and mulberry resources.**

CHEN W., XIAO G., LIAO S.  
Institute of Sericulture, Guangdong Provincial Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou,  
510640 China.

*1999 Zhong Yao Cai., Vol. 22(9), 481-484. (E)*

#### **Malphigi, Swammerdam and the colourful silkworm : replication and visual representation in early modern science.**

COBB M.

*2002 Annals of Science, Vol. 59(2), 111-147. (E)*

#### **The silk industry in medieval and early modern Italy : from worm to fabric.**

DAMERON G.

*2003 Renaissance Quarterly, Vol. 56(1), 155-156. (E)*

#### **Development of sericulture in Darjeeling : future prospects.**

DAS D., CHAKRABARTI S.

R.S.R.S., C.S.B., Kalimpong, West Bengal, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(6), 9-12. (E)*

#### **Dry matter degradation of the leaves of eleven mulberry varieties in the rumen of cattle and changes during the grazing season.**

EZENWA I., KITAHARA N.

*2001 Grassland Science, Vol. 47(3), 245-250. (E)*

#### **References to silk in Geniza documents of the eleventh century A.D.**

GIL M.

*2002 J. of Near-Eastern Studies, Vol. 61(1), 31-38. (E)*

**El gusano de seda y la morera.**

GONZALEZ MARIN F.

*2001 Myrtia, Murcia, 255 p.(S).*

**La estacion Sericicola de Murcia 1892-1976.**

GONZALEZ MARIN F.

*2001 Consejeria de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, Murcia, 355p (S)*

**The current status and prospect of sericultural by product industry in China.**

GUI Z., GUO X., FUAN W., JIANYI D.

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

*2003 Int. J. Indust. Entomol., Vol. 7(1), 1-4.*

**CSTRI panel winder - an on-line testing facility.**

HARIRAJ G., NAIK S.V., MAHESH K.N., SHILLIN S.N., SOMASHEKAR T.H.

CSTRI, Central Silk Board, Bangalore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 23-24. (E)*

**Diffusion of innovations through SUB-CRC system in sericulture.**

ILLAHI L., KHAN M.A.

Central Sericultural Research & Training Institute, Pampore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(6), 16-19. (E)*

**Muga schemes for eco restoration and sustainable rural developement.**

KAKATI L.N., KAKATI B.T.

Dept. of Zoology, Nagaland University, Nagaland, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(4), 13-15. (E)*

**Silk culture and silk reeling in Western Japan in the late 19th and early 20th centuries.**

KAWAHARA Y.

*2001 J. of Asian History, Vol. 35(2), 121-157. (E)*

**Prospects of muga culture in doon valley.**

KHATRI R.K., PALIWAL D.P., SINGH N., BABUDAL

NSSP, Central Silk Board, Dehradun, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 21-22. (E)*

**Wild silks of India and their brand identity.**

KIRSUR M.V., KRISHNA RAO J.V.

Central Silk Board, Bangalore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(4), 23-26. (E)*

**Large scale development of eri culture in India.**

KRISHNA RAO J.V., JAYARAJ S., SURYANARAYANA D.

Central Silk Board, Bangalore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(1), 27-32. (E)*

**Anti-diabetic effect of protoplast preparation from fresh leaves of mulberry (*Morus alba*).**

KUBO M., IDO Y., MATSUDA H., MIKAMI H.

*2001 Natural Medicines, Vol. 55(4), 181-186. (E)*

**Sea-silk : on the trail of a forgotten textile material (Costume material, byssu).**

MAEDER F., HALBEISEM M.

*2001 Wafren und Kostumkunde, Vol. 43(1), 33-41. (E)*



**Silk industry in Arunachal Pradesh.**

MISHRA S.N.

Service Centre, Sualkuchi, Assam, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 25-27. (E)*

**Proximate composition and fatty acid profile of *Bombyx mori* L. chrysalis toast.**

PEREIRA N.R., FERRARESE O., MATSUSHITA M., DE SOUZA N.É.

*2003 J. Food Composition and Analysis, Vol. 16(4), 451-457. (E)*

**Mulberry green tea for good health.**

SHETTY K.K., MOHAN B.N.

Central Silk Board, Bangalore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(4), 27-28. (E)*

***Bombyx mori*. A review of its potential as a medicinal insect.**

SINGH K.P., JAYASOMU R.S.

*2002 Pharmaceutical Biology, Vol. 40(1), 2620-2627. (E)*

**Maintenance of silkworm genetic resources in Japan.**

SINGH R.

C.S.R.T.I., Mysore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(6), 20-22. (E)*

***Theophila religiosae* - A wild mulberry silkworm.**

SINGH R., KARIAPPA B.K.

CSR & TI, Mysore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(4), 12. (E)*

**Eco-friendly agronomical technologies of mulberry.**

SUDHAKAR P., GHOSH J.K., RAJE URS S.

C.S.R.T.I., Berhampore, India.

*2003 Indian Silk, Vole. 42(6), 5-8. (E)*

**A study on the management of the top sericultural farm households.**

SUNOU A.

*2003 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 72(1), 7-14; (J)*

**Incorporation of mulberry in contour hedgerows to increase overall benefits : a case study for Ningnan County, Sichuan Province, China.**

TANG Y.A., ZHANG Y.Z., XIE J.S., HUI S.

*2003 Agricultural Systems, Vol. 76(2), 775-785. (E)*

**Chawki rearing - A pre-requisite to boost quality cocoon production.**

TRIPATHI P.M., DHAR A., BINDROO B.B., QADRI S.M.H.

Regional Sericultural Research Station, Miransahib, Jammu, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(5), 12-13. (E)*

**Sows'ears, silk purses and goats' milk : new production methods and medical applications for silk.**

WILLIAMS D.

Department of Clinical Engineering, University of Liverpool.

*2003 Med. Device Technol., Vol. 14(5), 9-11. (E)*

**Palaeontology : spider-web silk from the early cretaceous.**

ZSCHOKKE S.

Dept. of Integrative Biology, Section of Conservation Biology, Univ. of Basel, 4056 Basel, Switzerland.

*2003 Nature, Vol. 424(6949), 636-637. (E)*

## Mûrier

## Mulberry

**Tropic failure of *Phyllactinia corylea* contributes to the mildew resistance of mulberry genotypes.**

BABU A.M., KUMAR J.S., KUMAR V., SARKAR A., DATTA R.K.  
2003 *Mycopathologia*, Vol. 156(3), 207-213. (E)

**A new record of *Apanteles agilis* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), from the leaf-roller pest of mulberry, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) form India.**

BAI M.G., MARIMADAJAH B.  
2000 *Entomon.*, Vol. 25(2), 147-150. (E)

**Efficacy of some insecticides alone and in combination with neem oil against the whitefly, *Dialeuropora decempuncta* infesting mulberry.**

BANDYOPATHYAY U.K., KUMAR M.V.S.  
2000 *J. Entomological Research*, Vol. 24(4), 325-329. (E)

***Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of Indian mulberry, *Morus indica* cv. K2 : a time-phased screening strategy.**

BHATNAGAR S., KHURANA P.  
Dept of Plant Molecular Biology, Univ. of Delhi South Campus, Benito Juarez Road, 110021, New Delhi, India.  
2003 *Plant Cell Rep.*, Vol. 21(7), 669-675. (E)

**Rapid micropropagation of five cultivars of mulberry.**

BHAU B.S., WAKHLU A.K.  
2003 *Biologia Plantarum*, Vol. 46(3), 349-355. (E)

**Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*.**

BHAU B.S., WAKHLU A.K.  
2001 *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, Vol. 66(1), 25-29. (E)

**Some properties of yoghurt produced by adding mulberry pekmez (concentrated juice).**

CELIK S., BAKIRCI I.  
2003 *Intern. J. Dairy Technology*, Vol. 56(1), 26-29. (E)

**Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars.**

CHAITANYA K.V., JUTUR P.P., SUNDAR D., REDDY A.R.  
2003 *Plant Growth Regulation*, Vol. 40(1), 75-80. (E)

**Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars.**

CHAITANYA K.V., SUNDAR D., MASILAMANI S., REDDY A.R.

2002 *Plant Growth Regulation*, Vol. 36(2), 74-79. (E)**Fluoride accumulation and distribution in mulberry insects near fluoride pollution sources.**

CHEN Y., LU S.

2002 *The Journal of Applied Ecolog.*, Vol. 13(1), 106-108. (E)**Impact of balanced fertilizers on mulberry leaf yield.**

CHOWDARY N.B., GOVINDAIAH, SHARMA D.D.

Central Sericultural Research &amp; Training Institute, Mysore, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(3), 5-7. (E)**Effect of water logging on physiobiochemical attributes of mulberry (*Morus alba* L.).**

DAS C., DAS N.K., CHATTOPAGHYAY S., SENGUPTA T., SEN S.K.

2000 *Indian J. Plant Physiology*, Vol. 5(1), 79-81. (E)**Effect of foliar treatment of KCl on chlorophyll, total sugars, soluble protein, in vivo nitrate reductase activity and leaf yield in mulberry (*Morus alba* L. CV.S1).**

DAS C., GHOSH M.K., DAS B.K., MISRA A.K., MUKHERJEE P.K., RAJE URS S.

Central Sericultural Research &amp; Training Institute, Berhampore 742-101, West Bengal, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 45-49. (E)**Involvement of kinetin and spermidine in controlling salinity stress in mulberry (*Morus alba* L. cv. S-1).**

DAS C., SENGUPTA T., CHATTOPADHYAY S., SETUE M., DAS N.K., SARATCHANDRA B.

2002 *Acta Physiologiae Plantarum*, Vol. 24(1), 53-57. (E)**Mulberry stem rot in Tamil Nadu.**

DHAHIRA BEEVI N., QADRI S.M.H.

R.S.R.S., Salem, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(6), 15. (E)**Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L.**

DU J., HE Z.D., JIANG R.W., YE W.C., XU H.X., BUT P.P.H.

2003 *Phytochemistry*, Vol. 62(8), 1235-1238. (E)**Flavour evaluation of three black mulberry (*Morus nigra*) cultivars using GC/MS, chemical and sensory data.**

ELMACI Y.I., ALTUG T.

2002 *J. Science of Food and Agriculture*, Vol. 82(6), 632-635. (E)**Effect of different levels and sources of phosphorus on VA-mycorrhizal root colonization and spore load in mulberry (*Morus alba* L.).**

FATHIMA P.S., DAS P.K., KATIYAR R.S.

2000 *Crop Research Hisar*, Vol. 20(3), 504-508. (E)**Differentiation of two elite sub-tropical mulberry genotypes.**

FOTEDAR R.K., DHAR A., BINDROO B.B., KHAN M.A.

CSR &amp; TI, Pampore, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(2), 11-13. (E)



**Management of root rot disease in mulberry.**

GOVINDAIAH, SHARMA D.D., CHOWDARY N.B.  
Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore, India.  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(6), 13-15. (E)*

**Efficacy of different seed kernels against root knot nematode *Meloidogyne incognita* in mulberry.**

GOVINDAIAH, SHARMA D.D., MUKHERJEE S., CHOWDARY N.B.  
Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570 008, India.  
*2003 Int. J. Indust. Entomol., Vol. 6(2), 133-138. (E)*

**Mutagenic effects on seed germination and seedling survival in mulberry (*Morus indica* L.).**

HANUMANTHARAJU I., CHIKKALINGAIAH, SHRIDHARA S., GANGAPPA E.  
*2000 Crop Research, Vol. 20(3), 500-503. (E)*

**Seasonal changes in population density and species composition of *Orius* spp. in mulberry fields.**

KAKIMOTO K., INOUE H., YOSHIDA T.  
*2002 Japanese J. Applied Entomology and Zoology, Vol. 46(4), 209-215. (E)*

**Nitrogen fertilizer recommendations for mulberry (*Morus alba* L.) for two soil types based on Mitscherlich-Bray concept.**

KAR R., MAJUMDER S.K., DUTTA R.N., BOSE P.C., GHOSH J.K.  
*2000 Indian J. Seric., Vol. 39(1), 33-35. (E)*

**Apoptosis inducing activity of ethanol extracts from the tea of mulberry (*Morus alba*) leaves in HL-60 cells.**

KATSUBE T., YAMASAKI Y.  
*2002 J. Japanese Soc. Food Science and Technology, Vol. 49(3), 195-198. (E)*

**Rheology of mulberry pekmez.**

KAYA A.  
*2001 J. of Texture Studies, Vol. 32(5/6), 335-342. (E)*

**An appropriate way of mulberry shoot preservation.**

KHAN R.A., RAINA S.K., KOUL S., BINDROO B.B., MISRI S.S., QADRI S.M.H.  
RSRS, Miransahib, India.  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 13-14. (J,e)*

**Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography.**

KIM J.W., KIM S.U., LEE H.S., KIM I., AHN M.Y., RYU K.S.  
Dept of Seric. and Entomol., Nat. Inst. of Agric. Sci. and Tech., Suwon 441-100 South Korea.  
*2003 J. Chromatogr. A., Vol. 1002(1-2), 93-99. (E)*

**Five new notropane alkaloids and six new amino acids from the fruit of *Morus alba* Linne growing in Turkey.**

KUSANO G., ORIHARA S., TSUKAMOTO D., SHIBANO M., COSKUN M., GUVENC A., ERDURAK C  
*2002 Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 50(2), 185-192. (E)*

**In vitro gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves.**

LIU J.X., SUSENBETH A., SUDEKUM K.H.  
*2002 J. of Animal Science, Vol. 80(2), 517-524. (E)*

**Effect of certain insecticides in controlling *Pseudodentothrips mori* in mulberry.**

MISRA S., RAJAGOPAL REDDY C., SIVAPRASAD V., DHARMA REDDY K.,  
CHANDRASHEKHARIAH

Andhra Pradesh State Sericulture Research and Development Institute, Kirikera 515211, Hindupur,  
India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 83-86. (E)

**Ninety-day dietary toxicity study of mulberry leaf extract in rats.**

MIYAZAWA M., MIYAHARA C., SATOH S., SAKAI A.

2003 *J. Food Hygienic Soc. Japan*, Vol. 44(4), 191-197. (E)

**Leaf roller of mulberry.**

NARAYANASWAMY T.K., SRINIVASAGOWDA R., SANNAVEERAPPANAVAR V.T.

Department of Sericulture, UAS, GKVK, Bangalore, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(3), 8-10. (E)

**Development of leaf spot (*Myrothecium roridum*) and dispersal of inoculum in mulberry (*Morus spp.*).**

PRATHEESH KUMAR P.M., PAL S.C., QADRI S.M.H., GANGWAR S.K., SARATCHANDRA  
B.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 163-169. (E)

**Cadmium toxicity in mulberry plants with special reference to the nutritional quality of leaves.**

PRINCE W.S., KUMAR P.S., DOBERSCHUTZ K.D., SUBBURAM V.

2002 *J. Plant Nutrition*, Vol. 25(4), 689-700. (E)

**Leaf quality assessment of some selected mulberry genotypes through moulting test using silkworm larvae.**

RAHMAN M.S., DOSS S.G., SAU H.

2000 *Agricultural Science Digest*, Vol. 20(3), 180-182. (E)

**Mulberry sap sucking pests.**

RAJADURAI S., THIAGARAJAN V.

Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(4), 5-8. (E)

**Sooty mould infection on mulberry-management.**

RAJAGOPAL REDDY C., *et al.*

Department of Sericulture, Government of Andhra Pradesh, Anantapur 515 001, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 203-205. (E)

**Nitrate reductase (NR) activity and its relationship with protein content, leaf yield and its components in mulberry (*Morus spp.*).**

RAM R.D.M., REDDY M.P., REDDY B.K., SURYANARAYANA N.

2000 *Indian J. Seric.*, Vol. 39(1), 86-88. (E)

**A structural basis for the difference in specificity between the two jacalin-related lectins from mulberry (*Morus nigra*) bark.**

ROUGE P., PEUMANS W.J., BARRE A., VAN DAMME E.J.M.  
2003 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 304(1), 91-97. (E)

**Variability in specific leaf weight in mulberry germplasm and its inheritance pattern.**

SARKAR A., MOGILI T., CHATURVEDI H.K.  
Mulberry Breeding and Genetics Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, India.  
2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 69-73. (E)

**Phenotypic and genetic characterization of *Erwinia carotovora* from mulberry (*Morus* spp.)**

SEO S.T., FURUYA N., LIM C.K., TAKANAMI Y., TSUCHIYA K.  
2003 *Plant Pathology*, Vol. 52(2), 140-146. (E)

**Enhanced induction of proline and moracins in UV stressed mulberry plants.**

SHARMA R., SHARMA A., FUJIMURA T., MACHII H.  
National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Kannondai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan.  
2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 127-131. (E)

**Mulberry moracins: Scavengers of UV stress-generated free radicals.**

SHARMA R., SHARMA A., SHONO T., TAKASUGI M., *et al.*  
2001 *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, Vol. 65(6), 1402-1405.

**Phenolic constituents of the root bark of Chinese *Morus australis*.**

SHI Y., FUKAI T., CHANG W., YANG P., WANG F., NOMURA T.  
2001 *Natural Medicines*, Vol. 55(3), 143-146. (E)

**Studies on *Morus bombycis* callus cultures.**

SHIMAZAKI M., HANO Y., NOMURA T.  
2000 *Natural Medicines*, Vol. 54(6), 346-349. (E)

**Comparative study on the growth of mulberry (*Morus alba*) plant at different levels of fly-ash amended soil.**

SINGH V.K., BEHAL K.K., RAI U.N.  
2000 *Biological memoirs*, Vol. 26(1), 1-5. (E)

**Mathematical constants for non-destructive rapid method of leaf area determination in mulberry (*Morus* spp.).**

SINGHAL B.K., DHAR A., SHARMA A., JAND S., BINDROO B.B., SAXENA N.N., KHAN M.A.  
Regional Sericultural Research Station Miran Sahib, Jammu- 181 101, India.  
2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 139-143. (E)

**Genetic analysis of yield and its attributes in mulberry.**

SINGHVI N.R., CHAKRABORTY S., SINGHAL B.K., REKHA M., *et al.*  
2001 *Advances in Plant Sciences*, Vol. 14(1), 105-109. (E)

**First report of phloeospora leaf spot on mulberry caused by *Phloeospora maculans* (= *Cylindrosporium maculans*) in the East Mediterranean.**

SOYLU S., KURT S., SOYLU E.M.  
2003 *Plant Pathology*, Vol. 52(3), 415. (E)

**Thermal kinetics of color degradation of mulberry fruit extract.**

SUH H.J., NOH D.O., KANG C.S., KIM J.M., LEE S.W.

2003 *Nahrung Food*, Vol. 47(2), 132-135. (E)**Quantitative analysis of aglycone quercetin in 2 mulberry leaves (*Morus alba* L.) by capillary zone electrophoresis.**

SUNTORN SUK L., KASEMSOOK S., WONGYAI S.

2003 *Electrophoresis*, Vol. 24(7/8), 1236-1241. (E)**Development of SCAR markers distinguishing pure seedlings of the endangered species *Morus boninensis* from *M. boninensis* x *M. acidosa* hybrids for conservation in Bonin (Ogasawara) Islands.**

TANI N., KAWAHARA T., YOSHIMARU H., HOSHI Y.

2003 *Conservation Genetics*, Vol. 4(5), 605-612. (E)**Thidiazuron induced multiple shoot induction and plant regeneration from cotyledonary explants of mulberry.**

THOMAS T.D.

2003 *Biologia Plantarum*, Vol. 46(4), 529-533. (E)***In vitro* screening of mulberry (*Morus* spp.) for salinity tolerance.**

VIJAYAN K., CHAKRABORTI S.P., GHOSH P.D.

Central Sericultural Research and Training Institute, 742101, Berhampore, West Bengal, India.

2003 *Plant Cell Rep.*, in press.**ISSR profiling of Indian cultivars of mulberry (*Morus* spp.) and its relevance to breeding programs.**

VIJAYAN K., CHATTERJEE S.N.

2003 *Euphytica*, Vol. 131(1), 53-63. (E)**Physiological and anatomical characters of mulberry at ploidy levels.**

VIJAYAN K., DOSS S.G., MISRA A.K., CHAKRABORTY S.P., DAS C., ROY B.N.

2000 *Indian J. Plant Physiology*, Vol. 5(4), 324-327. (E)**Red mulberry.**

WEBER R.W.

National Jewish Medical &amp; Research Center, 1400 Jackson Street, Room B103a, Denver, CO 80206, USA.

2003 *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, Vol. 90(5), A6. (E)**Macerating enzymes produced by *Rhizopusoryzae* in infected mulberry roots.**

YOSHIDA S., TSUYUMU S., TSUKOBOSHI T.

2003 *J. Phytopathology/Phytopathologische Zeitschrift*, Vol. 151(7/8), 436-441. (E)



## ***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

### ***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

**Chitin synthesis inhibiting antifungal agents promote nucleopolyhedrovirus infection in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) larvae.**

ARAKAWA T.

2003 *J. Invertebrate pathology*, Vol. 83(3), 261-263. (E)

**Promotion of nucleopolyhedrovirus infection in larvae of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) by flufenoxuron.**

ARAKAWA T.

2002 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 37(1), 7-11. (E)

**Identification of bivoltine silkworm hybrids suitable for tropical climate.**

BEGUM A.N., BASAVARAJA H.K., RAO P.S., REKHA M., AHSAN M.M.

2000 *Indian J. Sericulture*, Vol. 39(1), 24-29. (E)

**Why second instar in silkworm has the shortest larval duration ?**

BIRAM SAHEB N.M., JAYASWAL J., KALAPPA H.K.

SCPC, Kunigal, India;

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(3), 11-12. (E)

**Molecular characterization of the gene pool of *Exorista sorbillans* (Diptera : Tachinidae) a parasitoid of silkworm, *Bombyx mori*, in India.**

CHATTERJEE S.N., MOHANDAS T.P., TARAPHDAR T.

2003 *Eur. J. Entomology*, Vol. 100(1), 195-200. (E)

**Differences in fluoride effects on fecundity among varieties of the silkworm *Bombyx mori*.**

CHEN Y.Y.

2003 *Fluoride*, Vol. 36(3), 163-169. (E)

**Variable tolerance of the silkworm *Bombyx mori* to atmospheric fluoride pollution.**

CHEN Y.Y.

2003 *Fluoride*, Vol. 36(3), 157-162. (E)

**An empirical analysis of cost of cocoon production.**

DANDIN S.B., KUMARESAN P.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India;

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(2), 5-10. (E)

**A new method of pebrine inspection of silkworm egg using multiprimer PCR.**

HATAKEYAMA Y., HAYASAKA S.

2003 *J. Invertebrate Pathology*, Vol. 82(3), 148-151. (E)

**Evaluation of different bed disinfectants against the spread of common diseases in silkworm, *Bombyx mori* L.**

ILLAHI I., et al.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 191-196. (E)

**Evaluation and identification of promising bivoltine hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L., for monsoon and spring season of Uttar Pradesh.**

JAISWAL K., GOEL R.

Babasaheb Bhimrao Ambedkar Univ., Vidya Vihar, Raebareli Road, Lucknow-226025, Uttar Pradesh, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 183-190. (E)

**Influence of low temperature incubation on diapause incidence and quantitative traits in *Bombyx mori* L.**

JAYASWAL K.P., RAUT S.K.

2000 *Uttar Pradesh J. Zoology*, Vol. 20(3), 233-237. (E)

**The restrictive potentiality of natural dyestuffs against the attacking by *Anthrenus verbasci*.**

KATO H., HATA T., TSUKADA M.

Insect and Animal Sciences Div., Nat. Inst. of Agrobio. Sci., Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(2), 55-63. (J,e)

**Mineral compositions in the feces of some silkworms.**

KIM I., KANG P.D., JANG S.K., RYU K.S., KIM D.H.

Departement of Sericulture & Entomology, NIAST, RDA, Suwon 441-100. Korea.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 75-78. (E)

**Effect of feed cut in fifth instar on cocoon characters and disease incidence in silkworm *Bombyx mori* L.**

KUMARI K.M., HIMANTHRAJ M.T., RAJAN R.K.

2001 *Uttar Pradesh J. Zoology*, Vol. 21(1-4). (E)

**A mycoparasitic ascomycete *Syspastospora parasitica* on the entomopathogenic fungus *Paecilomyces tenuipes* growing in *Bombyx mori*.**

LEE S., NAM S.H.

2000 *Mycobiology*, Vol. 28(3), 130-132. (E)

**Study on sex-linked inheritance of quantitative characters in direct and reciprocal crosses of silkworm *Bombyx mori* L.**

MAL REDDY N., BASAVARAJA H.K., DAR A.K., KUMAR S., DANDIN S.B.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 15-20. (E)

**Performance of newly evolved bivoltine silkworm hybrids of *Bombyx mori* with reference to hybrid vigour.**

MAL REDDY N., BASAVARAJA H.K., SURESH KUMAR N., JOGE P.G., KALPANA G.V., DANDIN

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore 570008, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 59-63. (E)

**Analysis of host specificity of two closely related baculoviruses in permissive and nonpermissive cell lines.**

MASMUDUR RAHMAN Md., GOPINATHAN K.P.

Departement of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India.

2003 *Virus Research*, Vol. 93, 13-23. (E)

**Breeding of near isogenic lines of silkworm (*Bombyx mori* L.).**

MUWANG L., ANYING X., CHENGXIANG H., YUEHUA Z., JUNTING H., XIJIE G.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 207-210. (E)

**Inactivation of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus by reducing agents.**

NAGATA M., NAKAO R., HAMADA K., AOKI F.

Dept of Integrated Biosciences, Grad. School of Frontier Sci., Univ. of Tokyo, Bldg FSB-302,

Kashiwa 277-8562, Japan.

2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(2), 49-54. (J,e)

**Evolution and identification of thermo-tolerant hybrids in the silkworm, *Bombyx mori* L.**

NASEEMA BEGUM A., REKHA M., BASAVARAJA H.K., AHSAN M.M.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 171-178. (E)

**Comparative study of commercial characters of cocoon produced by ripe and unripe bivoltine larvae (*Bombyx mori* L.) mounted at different maturation levels.**

RAHMATHULLA V.K., HAQUE S.Z., GEETHA DEVI R.G.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7-1), 79-82. (E)

**Rearing of a polyhybrid strain of *Bombyx mori* L. (*Lepidoptera Bombycidae*) on artificial diets containing different amounts of mulberry leaves.**

SBRENNÀ G., MICCIARELLI A., CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S.

2000 *Redia*, Vol. 83, 175-186. (E)

**A factor reducing cocoon filament quality in silkworm reared on an artificial diet during all instars.**

SHIMURA S., NAKAJIMA K., NAKAHARA Y., AYUSAWA H., TATEISHI K., JOIKE F., OKAJIMA

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

2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(2), 71-77. (J,e)

**Development of resistance to *Bombyx mori* densovirus into a susceptible silkworm breed.**

SINGH G.P., MENGKUI X., YUJIN C., DATTA R.K.

Silkworm Pathology laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi 835303, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 145-149. (E)

**Studies on analysis of combining ability in the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.**

SINGH R., RAGHAVENDRA RAO D., KARIAPPA B.K., PREMALATHA V., DANDIN S.B.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 107-113. (E)

**Biological control strategy of uzi fly in sericulture.**

SINGH R.N., SARATCHANDRA B.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 125-132. (E)

**Screening of silkworm breeds for tolerance to *Bombyx mori* nuclear polyhedro virus (BmNPV).**

SIVAPRASAD V., CHANDRASEKHARAI AH, RAMESH C., MISRA S., KUMAR K.P.K., RAO Y.U.M.

Andhra Pradesh State Sericulture Research & Development Institute, Kirikera 515211, Hindupur, Andhra Pradesh, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 87-91. (E)

**F(ab)2-ELISA for the detection of nuclear polyhedrosis virus of silkworm, *Bombyx mori* L.**

SIVAPRASAD V., NATARAJU B., BAIG M., SAMSON M.V., DATTA R.K.

Central Sericultural Research & Training Institute (CSRTI), Mysore 570 008, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 179-181. (E)

**Options to improve environmental conditions in silkworm rearing houses.**

SRINIVAS S.N., NINGA SETTY H.H., VIPRADAS M., KISHORE V.V.N.

Tata Energy Research Institute, Southern Regional Center, P.B. N 7117, 4th Main Road, Bangalore, 560071, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(5), 9-11. (E)

**Sericin hope - A new silkworm race secreting silk protein.**

SRINIVASA BABU G.K.

NSSP, Central Silk Board, India.

2003 *Indian Silk*, Vol. 42(5), 8. (E)

**Effect of high temperature and high humidity on the quantitative traits of parents, foundation crosses, single and double hybrids of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L.**

SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K., MAL REDDY N., DANDIN S.B.

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

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 197-202. (E)

**Effect of phytoecdysteroid on pure breed performance of silkworm *Bombyx mori* L.**

TRIVEDY K., DHAR A., NIRMAL KUMAR S., SASHINDRAN NAIR K., RAMESH M., GOPAL N.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, Karnataka, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 29-36. (E)

**Early and uniform maturation in silkworm *Bombyx mori* L. by phytoecdysteroid extracted from a plant of family caryophyllaceae.**

TRIVEDY K., SASHINDRAN NAIR K., RAMESH M., GOPAL N., NIRMAL KUMAR S.

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore-570008, Karnataka, India.

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 65-68. (E)

**Expression of heterotic genetic interaction among multivoltine recurrent backcross/congenic lines for higher shell weight of silkworm, *Bombyx mori* L.**

VERMA A.K., CHATTOPADHYAY G.K., SENGUPTA M., SENGUPTA A.K., DAS S.K., RAJE URS S.

Silkworm Breeding, Genetics and Molecular Biol. Lab., C. Seric. Res. and Training Inst., Berhampore, West Bengal, India

2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 21-27. (E)



**Effects of cetyltriethylammonium bromide on the replication of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.**

ZHOU Y.J., ZHANG Z.F., HE J.L., ZHANG Y.X.

2002 *Cytotechnology*, Vol. 39(1), 27-35. (E)

## Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

## Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

**Causal organism of flacherie in the silkworm *Antheraea assam* Ww: isolation, characterization and its inhibition by garlic extract.**

CHOUDHURY A., GUHA A., YADAV A., UNNI B.G., ROY M.K.  
*2002 Phytotherapy Research, Vol. 16(1), S89-S90. (E)*

**Variations in the essential oil composition of *Persea bombycina* (King ex Hook. f.) Kost and its effect on muga silkworm (*Antheraea assama* Ww). A new report.**

CHOUDHURY S.N., VAJZIKOVA I.  
*2003 Indian J. Chemistry, Vol. 42(3), 641-647. (E)*

**Low cost technology for eri silkworm rearing.**

DEBARAJ Y., SARMAH M.C., SURYANARAYANA N.  
R.E.R.S., Mendipathar, India.  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(6), 23-25. (E)*

**Expression pattern of *Cubitus interruptus* from the mulberry silkworm *Bombyx mori* in late developmental stages.**

DHAWAN S., GOPINATHAN K.P.  
*2003 Development Genes and Evolution, Vol. 213(4), 166-177. (E)*

**Effect of dietary muga silkworm supplementation on the performance of broilers.**

GOSWANI R.  
*2003 Indian Veterinary J., Vol. 80(1), 19-22. (E)*

**Tasar host plants germplasm : establishment, management and cataloguing.**

KUMAR R., JOSHI M.C., GARGI, BECK S., GANGOPADHYAYA A.  
Central Tasar Research & Training Institute, Nagri, Ranchi, India  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 19-20. (E)*

**Modal - A unique tasar ecorace.**

MOHAN RAO K., SATPATHY B.  
Regional Tasar Research Station, Baripada, Orissa, India.  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(5), 15-17. (E)*

**Tasar egg drying device.**

NARAIN R., PRASAD B.C., RATH S.S., KULSHRESHTHA V.  
CTRRI, Ranchi, India.  
*2003 Indian Silk, Vol. 42(5), 27-. (E)*

**Preliminary experiments to spin silks of seven species of *Saturniidae* from North America.**

PEIGLER R.S., BAIRD J.W.

Department of Biology, Univ. of the Incarnate Word, 4301 Broadway, San Antonio, Texas  
78209-6397, USA.

*2001 Int. J. Wild Silkmoth & Silk, Vol. 6, 1-6. (E)*

**Food utilization efficiency in fifth instar larvae of *Antheraea mylitta* (Lepidoptera: Saturniidae) infected with *Nosema* sp. and its effect on reproductive potential and silk production.**

RATH S.S., PRASAD B.C., SINHA B.R.

*2003 J. Invertebr. Pathol., Vol. 83(1), 1-9. (E)*

**Muga silkworm seed production : constraints and strategies.**

SAHU A.K.

Regional Muga Research Station, Boko, Assam, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(2), 14-17. (E)*

**Contribution of adopted seed rearers in Tasar seed production.**

VERMA R.S., VERMA A.S., BARNWAL A.K., KHANNA R.P.

BSMTC, Madhupur, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(3), 15-18. (E)*

## Vers à soie : génétique

### Silkworms: genetics

#### Identification of ISSR markers associated with productivity traits in silkworm, *Bombyx mori* L.

CHATTERJEE S.N., MOHANDAS T.P.  
2003 *Genome*, Vol. 46(3), 438-447. (E)

#### Screening of RAPD markers for fluoride resistance in *Bombyx mori* L.

CHEN K., YAO Q., LI M., WANG Y.  
Institute of Life Sciences, Jiangsu University, 301 Xuefu Road, Zhenjiang-212013, P.R. China.  
2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 11-14. (E)

#### Genetic basis of screening of molecular markers for nuclear polyhedrosis virus resistance in *Bombyx mori* L.

CHEN K., YAO Q., WANG Y., CHENG J.  
Institute of Life sciences, Jiangsu University, 301 Xuefu Road, Zhenjiang-212013, P.R. China.  
2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 5-10. (E)

#### Corrigendum to "Comparative architecture of silks, fibrous proteins and their encoding genes in insects and spiders". (*Comp. Biochem. Physiol.* B133(2002), 493-507.

CRAIG C.L., RIEKEL C.  
Museum of Comparative Zoology, Harvard University, MA 02138, USA.  
2003 *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem Mol. Biol.*, Vol. 135(4), 721. (E)

#### A *Bombyx mori* gene, BmChi-h, encodes a protein homologous to bacterial and baculovirus chitinases.

DAIMON T., HAMADA K., MITA K., OKANO K., SUZUKI M.G., KOBAYASHI M., SHIMADA T.  
Lab. of Insect Genetics and Bioscience, Dept. of Agric. and Environ. Biol., University of Tokyo, Bunkyo ku, Tokyo, Japan  
2003 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 33(8), 749-759. (E)

#### Cloning and characterization of an eukaryotic initiation factor-1 alpha kinase from the silkworm, *Bombyx mori*.

DHARMA PRASAD M., HAN S.J., NAGARAJU J., LEE W.J., BREY P.T.  
Laboratoire de Biochimie et Biol. Mol. des Insectes, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 PARIS Cedex 15, France.  
2003 *Biochim. Biophys Acta*, Vol. 1628(1), 56-63. (E)



**Rapid identification of *Bombyx mori* cells using PCR amplification following a direct procedure for genomic DNA preparation.**

FUNATSUKI K., HASHIDO K., MATSUNAMI M., KAMEOKA Y., *et al.*  
 2001 *J. Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 70(2), 129-136. (E)

**Polydnavirus integration in lepidopteran host cells in vitro.**

GUNDERSEN-RINDAL D.E., LYNN D.E.

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Insect Biocontrol laboratory, 20705, Beltsville, MD, USA.

2003 *J. Insect Physiol.*, Vol. 49(5), 453-462. (E)

**Expression of human interleukin-11 in cell culture and larvae of silkworm.**

GUO X., YONG Y., YANG M., ZHANG Y.

2002 *Chinese J. Biotechnology*, Vol. 18(1), 30-34. (E)

**Genomic structure and expression analysis of the gene encoding a silkworm basic Kunitz-type chymotrypsin inhibitor.**

HÉ N., YAKIYAMA M., FUJII H., BANNO Y., YAMAMOTO K.

Inst. of Insect Genetic R., Graduate School of Bioresource and Bioenvir. Sci., Kyushu Univ. 6-10-1, Higashi, Japan.

2003 *Biochim. Biophys Acta*, Vol. 1628(1), 71-77. (E)

**cDNA cloning and mRNA expression of L-3,4-dihydroxyphenylalanine decarboxylase gene homologue from the silkworm, *Bombyx mori*.**

HWANG J.S., KANG S.W., GOO T.W., YUN E.Y., LEE J.S., *et al.*

2003 *Biotechnology Letters*, Vol. 25(12), 997-1002. (E)

**Genomic sequence of a 320-kb segment of the Z chromosome of *Bombyx mori* containing a kettin ortholog.**

KOIKE Y., MITA K., SUZUKI M.G., MAEDA S., ABE H., *et al.*

2003 *Molecular Genetics and Genomics*, Vol. 269(1), 137-149. (E)

**A deleted portion of one of the two xanthine dehydrogenase genes causes translucent larval skin in the oq mutant of the silkworm (*Bombyx mori*).**

KOMOTO N.

2002 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 32(6), 591-597. (E)

**Mutations of the silkworm molybdenum cofactor sulfurase gene, og, cause translucent larval skin.**

KOMOTO N., SEZUTSU H., YUKUHIRO K., BANNO Y., FUJII H.

2003 *Insect Biochem. and Mol. Biology*, Vol. 33(4), 417-427. (E)

**Construction of targeting vector and expression of green fluorescent protein in the silkworm, *Antheraea pernyi*.**

LI W., JIN L., AN L.

Bioengineering Department, Dalian University of Technology, Dalian 116012, Liaoning Province, P.R. China.

2003 *DNA Cell Biol.*, Vol. 22(7), 441-446. (E)

**Expression of *Schistosoma japonicum* fatty acid binding protein gene in silkworm cells and larvae.**

LIU J., CAI X., LIN J., *et al.*

1999 *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic diseases*, Vol. 17(4), 218-221. (E)

**Cloning of a putative *Bombyx mori* TFIIB-related factor (BRF).**

MARTINEZ M.J., SPRAGUE K.U.

2003 *Archives Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 54(2), 55-67. (E)

**Characterization of the gene encoding the envelope fusion glycoprotein GP64 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.**

MASMUDAR RAHMAN Md., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India;  
2003 *Virus Research*, Vol. 94, 45-57. (E)

***Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus-based surface display system for recombinant proteins.**

MASMUDUR RAHMAN Md., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India.  
2003 *Journal of General Virology*, Vol. 84, 2023-2031. (E)

**Functional analysis of an immediate early gene, *ie1*, of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus in mammalian cells.**

MATSUYAMA T., ASANO S., SAHARA K., BANDO H.

Lab. of Applied Molecular Entomology, Div. of Appl. Bio., G. Sc. of Agric. Hokkaido Univ., Sapporo 060-8589, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 87-94. (E)

**Isolation and comparison of different ecdysone-responsive cuticle protein genes in wing discs of *Bombyx mori*.**

NOJI T., OTE M., TAKEDA M., MITA K., SHIMADA T., KAWASAKI H.

2003 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 33(7), 671-679. (E)

**B96Bom encodes a *Bombyx mori* tyramine receptor negatively coupled to adenylate cyclase.**

OHTA H., UTSUMI T., OZOE Y.

Dept. of Life Science and Biotech., Fac. of Life and Envir. Sci., Shimane Univ., Matsue, Shimane, Japan.

2003 *Insect Mol. Biol.*, Vol. 12(3), 217-223. (E)

**Cloning and characterization of an eukaryotic initiation factor-2 alpha kinase from the silkworm, *Bombyx mori*.**

PRASAD M.D., HAN S.J., NAGARAJU J., LEE W.J., BREY P.T.

2003 *Biochim. Biophys. Acta : Gene Structure and Expression*, Vol. 1628(1), 56-63. (E)

**A comparative phylogenetic analysis of full-length mariner elements isolated from the Indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta* (Lepidoptera: saturniidae).**

PRASAD M.D., NAGARAJU J.

Lab. of Molecular Genetics, Center for DNA Fingerprinting and Diagnostics, ECIL Road, nacharam, Hyderabad 500 076, India

2003 *J. Biosci.*, Vol. 28(4), 443-453. (E)

**Induction of the white egg 3 mutant phenotype by injection of the double-stranded RNA of the silkworm white gene.**

QUAN G.X., KANDA T., TAMURA T.

2002 *Insect Molecular Biology*, Vol. 11(3), 217-222. (E)

**Characterization of the gene encoding the envelope fusion glycoprotein GP64 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.**

RAHMAN M.M., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India.  
2003 *Virus Res.*, Vol. 94(1), 45-57. (E)

***Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus-based surface display system for recombinant proteins.**

RAHMAN M.M., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India.

2003 *J. Gen Virol.*, Vol. 84(8), 2023-2031. (E)**Bmmar6, a second mori subfamily mariner transposon from the silkworm moth *Bombyx mori*.**

ROBERTSON H.M., WALDEN K.K.O.

2003 *Insect Mol. Biol.*, Vol. 12(2), 167-171. (E)**W-derived BAC probes as a new tool for identification of the W chromosome and its aberrations in *Bombyx mori*.**SAHARA K., YOSHIDO A., KAWAMURA N., *et al.*

Div. of Applied Bioscience, Grad. School of Agric., Hokkaido Univ. N9, W9, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan.

2003 *Chromosoma*, Vol. 112(1), 48-55. (E)**Multiple forms of U2 snRNA coexist in the silkworm *Bombyx mori*.**SIERRA-MONTES J.M., FREUND A.V., RUIZ L.M., SZMULEWICZ M.N., *et al.*2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 11(1), 105-114. (E)**Characterization of RNA polymerase III transcription factor TFIIC from the mulberry silkworm, *Bombyx mori*.**

SRINIVASAN L., GOPINATHAN K.P.

2002 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 269(6), 1780-1789. (E)**Analysis of the biological functions of a doublesex homologue in *Bombyx mori*.**

SUZUKI M.G., FUNAGUMA S., KANDA T., TAMURA T., SHIMADA T.

2003 *Development Genes and Evolution*, Vol. 213(7), 345-354. (E)**The effect of W chromosome origin on sex-chromosome pairing in ZZWW tetraploid females of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, and the congenic wild silkworm, *Bombyx mandarina*.**

TANAKA N., YOKOYAMA T., ABE H., NINAGI O., OSHIKI T.

2002 *Genetica*, Vol. 114(1), 89-94. (E)**3xP3-EGFP marker facilitates screening for transgenic silkworm *Bombyx mori* L. from the embryonic stage onwards.**

THOMAS J.L., DA ROCHA M., BESSE A., MAUCHAMP B., CHAVANCY G.

Unité Nationale Séricicole, I.N.R.A. 25, Quai J.J. Rousseau, 69350 - La Mulatière. FRANCE

2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(3), 247-253. (E)**Organization and expression strategy of the ambisense genome of denonucleosis virus of *Galleria mellonella*.**

TIJSSEN P., LI Y., EL-FAR M., SZELEI J., LETARTE M., ZADORI Z.

INRS -Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Quebec, Canada H7V1B7

2003 *J. Virol.*, Vol. 77(19), 10357-10365. (E)**Heat-inducible transgenic expression in the silkworm *Bombyx mori*.**

UHLIROVA M., ASAHINA M., RIDDIFORD L.M., JINDRA M.

2002 *Development Genes and Evolution*, Vol. 212(3), 145-151. (E)

**Complete sequence of the 10.3 kb silkworm *Attacus ricini* rDNA repeat, determination of the transcriptional initiation site and functional analysis of the intergenic spacer.**

WANG S.Q., ZHAO M.J., LI T.P.

2003 *DNA sequence*, Vol. 14(2), 95-101. (E)

**Screening of molecular markers for NPV resistance in *Bombyx mori* L. (Lep., Bombycidae).**

YAO Q., LI M.W., WANG Y., WANG W.B., LU J., DONG Y., CHEN K.P.

2003 *J. Applied Entomol. Zitschrift fur angewandter Entomologie*, Vol. 127(3), 134-136. (E)

**Detachment analysis of the translocated W chromosome shows that the female-specific randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker, female-218, is derived from the second chromosome fragment region of the translocated W chromosome of the sex-limite d p(B) silkworm (*Bombyx mori*) strain.**

YOKOYAMA T., ABE H., IROBE Y., SAITO K., *et al.*

Dept. of Biol. Production, Fac. of Agric., Tokyo Univ. of Agric. and Techn., Fuchu, Tokyo, Japan.

2003 *Hereditas*, Vol. 138(2), 148-153. (E)

**Discontinuous translation and mRNA structure of the coding region.**

ZAMA M.

National Institute of Radiological Sciences, 9-1 Anagawa-4-chome, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan.

2000 *Nucleic Acids Symp. Ser.*, Vol. 44, 91-92. (E)

**The 62-kb upstream region of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene is clustered of repetitive elements and candidate matrix association regions.**

ZHOU C.Z., CONFALONIERI F., ESNAULT C., ZIVANOVIC Y., *et al.*

Institut de Génétique et Microbiologie, Université Paris-Sud et CNRS, 91405 ORSAY Cedex, France.

2003 *Gene*, Vol. 312, 189-195. (E)

**Cetyltriethylammonium bromide stimulating transcription of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus gp64 gene promoter mediated by viral factors.**

ZHOU Y.J., YI Y.Z., ZHANG Z.F., HE J.L., ZHANG Y.X.

2003 *Cytotechnology*, Vol. 41(1), 37-44. (E)

## Vers à soie : physiologie, biochimie

## Silkworms : physiology, biochemistry

**Chitin synthesis inhibiting antifungal agents promote nucleopolyhedrovirus infection in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) larvae.**

ARAKAWA T.

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

2003 *J. Invertebr. Pathol.*, Vol. 83(3), 261-263. (E)

**Peroral infection of a baculovirus vector in the prefinal instar larvae of *Bombyx mori* aided by flufenoxuron, an insect growth regulator.**

ARAKAWA T., KOZUMA K.

2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(1), 15-18. (J)

**Ultrastructure of maxillary sensilla in the silkworm, *Bombyx mori* : differences among strains ?**

ASAOKA K.

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

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 117-125. (E)

**Probing a pheromone binding protein of the silkworm *Antheraea polyphemus* by endogenous tryptophan fluorescence.**

BETTE S., BREER H., KRIEGER J.

2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(3), 241-246. (E)

**A review on the effect of insect hormone analogues on growth, development, silk yield and metabolic activities of silkworm, *Bombyx mori* L.**

BHARATHI D., MIAO Y.

2001 *J. Advanced Zool.*, Vol. 22(2), 56-69. (E)

**Constructing a feedback loop with circadian clock molecules from the silkworm, *Antheraea pernyi*.**

CHANG D.C., MCWATTERS H.G., WILLIAMS J.A., GOTTER A.L., LEVINE J.D., REPPERT S.M.

2003 *J. Biol. Chem.*, Vol. 278(40), 38149-38158. (E)

**Antiproliferative effect of chlorophyllin derived from a traditional Chinese medicine *Bombyx mori* excreta on human breast cancer MCF-7 cells.**

CHIU L.C., KONG C.K., OOI V.E.

Department of Biology, The Chinese Univ. of Hong Kong, Shatin, NT, Hong Kong SAR, P.R. CHINA.

2003 *Int. J. Oncol.*, Vol. 23(3), 729-735. (E)



**Insect defenses against virus infection: the role of apoptosis.**

CLARKE T.E., CLEM R.J.

Molecular, Cellular and Develop. Biology Program, Div. of Biology, Kansas State Univ., Manhattan, Kansas, USA.

2003 *Int. Rev. Immunol.*, Vol. 22(5-6), 401-424. (E)

**Localization of myoinhibitory peptide immunoreactivity in *Manduca sexta* and *Bombyx mori*, with indications that the peptide has a role in molting and ecdysis.**

DAVIS N.T., BLACKBURN M.B., GOLUBEVA E.G., HILDEBRAND J.G.

2002 *J. Exp. Biol.*, Vol. 206(9), 1449-1460. (E)

**Involvement of calcium, inositol-1,4,5 trisphosphate and diacylglycerol in the prothoracicotropic hormone-stimulated ecdysteroid synthesis and secretion in the prothoracic glands of *Bombyx mori*.**

DEDOS S.G., FUGO H.

2001 *Zool. Sci.*, Vol. 18(9), 1245-1251. (E)

**Expression pattern of *Cubitus interruptus* from the mulberry silkworm *Bombyx mori* in late developmental stages.**

DHAWAN S., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, 560012 Bangalore, India.

2003 *Dev. Genes Evol.*, Vol. 213, 166-177. (E)

**Silk spinning behavior and domicile construction in webspinners.**

EDGERLY J.S., DAVILLA J.A., SCHOENFELD N.

2002 *J. Insect Behavior*, Vol. 15(2), 79-81. (E)

**Presence of alternative complement pathway-inhibiting protein (ACPIP) from silkworm (*Bombyx mori*): changes in activity at various stages of fifth larval stadium.**

FUJIKURA Y., SEKIJIMA Y., HIYAMA T., CHENG Z.Y., HAMANO K., SAITO J., TAKAHASHI

2003 *Applied Entomology and Zoology*, Vol. 38(2), 163-166. (E)

**Molecular characterization of a *Bombyx mori* protein disulfide isomerase (bPDI).**

GOO T.W., YUN E.Y., HWANG J.S., KANG S.W., PARK S., YOU K.H., KWON O.Y.

2002 *Cell Stress & Chaperones*, Vol. 7(1), 118-125. (E)

**Isolation and characterization of a gene encoding a protein disulfide isomerase from *Bombyx mori* Bm5 cell line.**

GOO T.W., YUN E.Y., HWANG J.S., KANG S.W., PARK S.J., YOU K.H., KWON O.Y.

2001 *Korean J. Genetics*, Vol. 23(2), 183-190. (E)

**Phylogenetic relationship of *Bombyx mori* protein disulfide isomerase.**

GOO T.W., YUN E.Y., HWANG J.S., KANG S.W., YOU K.H., KWON O.Y.

2002 *Zeitschrift für Naturforschung*, Vol. 57(1/2), 189-196. (E)

**Stimulation of juvenile hormone biosynthesis by different ecdysteroids in *Bombyx mori*.**

GU S.H., CHOW Y.S.

2003 *Zoological Studies*, Vol. 42(3), 450-454. (E)

**Stage-dependent effects of 20-hydroxyecdysone on DNA synthesis of corpus allatum cells in the silkworm, *Bombyx mori*.**

GU S.H., CHOW Y.S.

Department of Zoology, National Museum of Natural Science, Taichung, Taiwan, Republic of China.

2003 *J. Exp. Zool.*, Vol. 297A(2), 138-146. (E)

**Assembly into single-shelled virus-like particles by major capsid protein VP1 encoded by genome segment S1 of *Bombyx mori* cyovirus 1.**

HAGIWARA K., NAITOW H.

Laboratory of Virology, National Agricultural Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan.  
2003 *J. Gen. Virol.*, Vol. 84(9), 2439-2441. (E)

**A cadherin-like protein functions as a receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa and Cry1Ac toxins on midgut epithelial cells of *Bombyx mori* larvae.**

HARA H., ATSUMI S., YAOI K., NAKANISHI K., *et al.*

2003 *FEBS Letters*, Vol. 538(1/3), 29-34. (E)

**Solution structure of moricin, an antibacterial peptide, isolated from the silkworm *Bombyx mori*.**

HEMMI H., ISHIBASHI J., HARA S., YAMAKAWA M.

2002 *FEBS Letters*, Vol. 518(1/3), 33-38. (E)

**Morphology and physiology of the serotonin-immunoreactive putative antennal lobe feedback neuron in the male silkworm *Bombyx mori*.**

HILL E.S., IWANO M., GATELLIER L., KANZAKI R.

2002 *Chemical Senses*, Vol. 27(5), 475-483. (E)

**cDNA cloning and characterization of *Bombyx mori* juvenile hormone esterase: an inducible gene by the imidazole insect growth regulator KK-42.**

HIRAI M., KAMIMURA M., KIKUCHI K., YASUKOCHI Y., KIUCHI M., *et al.*

2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(6), 627-635. (E)

***Bombyx mori* orphan receptor, BmHR78: cDNA cloning, testis abundant expression and putative direrization partner for *Bombyx ultraspiracle*.**

HIRAI M., SHINODA T., KAMIMURA M., TOMITA S., SHIOTSUKI T.

2002 *Mol. Cell. Endocrinology*, Vol. 189(1/2), 201-211. (E)

**Regulation of glutamine metabolism during the development of *Bombyx mori* larvae.**

HIRAYAM C., NAKAMURA M.

2002 *Biochem. Biophys. Acta*, Vol. 1571(2), 131-137. (E)

**Comparison of promoter activity of the p10 gene between *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus variants.**

HONG H.K., CHOI J.Y., WOO S.D., LEE H.K., JE Y.H.

2001 *J. Microbiology and Biotechnology*, Vol. 11(4), 585-591. (E)

**cDNA cloning and mRNA expression of L-3,4-dihydroxyphenylalanine decarboxylase gene homologue from the silkworm, *Bombyx mori*.**

HWANG J.S., KANG S.W., GOO T.W., YUN E.Y., LEE J.S., KWON O.Y., CHUN T., *et al.*

Dept. of Seric. and Entomol., Nat. Inst. of Agric. Science and Techn., RDA, SUWON 441-100, South Korea.

2003 *Biotechnol. Lett.*, Vol. 25(12), 997-1002. (E)

**Ultradian firing rhythm of neurosecretory cells producing an insulin-related peptide in the silkworm *Bombyx mori*.**

ICHIKAWA T.

2001 *Zoological Science*, Vol. 18(2), 151-158. (E)

**Firing activities of neurosecretory cells producing diapause hormone and its related peptides in the female silkworm, *Bombyx mori*. I/ Labial cells.**

ICHIKAWA T.

2003 *Zoological Science*, Vol. 20(8), 971-978. (E)

**Heteronomous rhythmic activity of neurosecretory cells in the silkworm.**

ICHIKAWA T., KAMIMOTO S.

Dept of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu Univeristy, 812-8581 Fukuoka, Japan.

2003 *Neurosci. Lett.*, Vol. 347(2), 73-76. (E)

**Firing activities of neurosecretory cells producing diapause hormone and its related peptides in the female silkworm, *Bombyx mori*. II- Mandibular and maxillary cells.**

ICHIKAWA T., KAMIMOTO S.

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University.

2003 *Zoolog. Sci.*, Vol. 20(8), 979-983. (E)

**Firing activity of "Diapause hormone" producing cells in the male silkworm, *Bombyx mori*.**

ICHIKAWA T., SUENOBU A.

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University.

2003 *Zoolog. Sci.*, Vol. 20(8), 957-962. (E)

**Molecular cloning and expression of a toll receptor gene homologue from the silkworm, *Bombyx mori*.**

IMAMURA M., YAMAKAWA M.

2002 *Biochem. Biophys. Acta*, Vol. 1576(3), 246-254. (E)

**cDNA cloning, characterization and gene expression of nitric oxide synthase from the silkworm, *Bombyx mori*.**

IMAMURA M., YANG J., YAMAKAWA M.

2002 *Insect Molecular Biology*, Vol. 11(3), 257-265. (E)

**Establishment and characterization of a continuous cell line from pupal ovaries of Japanese oak silkworm *Antheraea yamamai* Guerin-Meneville.**

IMANISHI S., INOUE H., *et al.*

2003 *In Vitro Cellular and Developmental Biology Animal*, Vol. 39(1/2), 1-3. (E)

**Effect of silkworm hemolymph on N-linked glycosylation in two *Trichoplusia* insect cell lines.**

JOOSTEN C.E., PARK T.H., SHULER M.L.

School of Chemical and Biomolecular Engineering, Cornell University, 120 Olin Hall, Ithaca, New York 14853-5201, USA.

2003 *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 83(6), 695-705. (E)

**Molecular cloning of silkworm paralytic peptide and its developmental regulation.**

KAMIMURA M., NAKAHARA Y., KANAMORI Y., TSUZUKI S., HAYAKAWA Y., KIUCHI M.

National Inst. of Agrobiol. Sci., Tsukuba, ibaraki 305-8634, Japan.

2001 *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 286, 67-73. (E)

**Effect of silkworm-extract on mucus secretion in rat tracheobronchial lumen.**

KANG Y.K., LIM H.B., SOHN H.O., LEE Y.G., LEE D.W., NAM S.H.

2000 *Korean J. Entomology*, Vol. 30(2), 71-75. (E)

**Projections to higher olfactory centers from subdivisions of the antennal lobe macroglomerular complex of the male silkworm.**

KANZAKI R., SOO K., SEKI Y., WADA S.  
2002 *Chem. Senses*, Vol. 28(2), 113-130. (E)

**Characterization of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda* cells.**

KATOU Y., IKEDA M., KOBAYASHI M.  
2001 *J. Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 70(2), 137-147. (E)

**Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production in in vitro cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*.**

KAWAMURA N., SAHARA K., FUGO H.  
Biology Laboratory, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai Midorimachi, 069-8501, Ebetsu, Hokkaido, Japan.  
2003 *J. Insect Physiol.*, Vol. 49(1), 25-30. (E)

**The presence of estradiol-17B and its specific binding sites in posterior silk gland of *Bombyx mori*.**

KESHAN B., RAY A.K.  
2001 *General and Comparative Endocrinology*, Vol. 123(1), 23-30. (E)

**Actions of benzaldehyde hydrazones and semicarbazones on biogenic amine receptors in the silkworm *Bombyx mori*.**

KHAN M.A.A., OZOE Y.  
2003 *J. Pesticide Science*, Vol. 28(2), 194-199. (E)

**Inhibition of apoptosis by recombinant 30K protein originating from silkworm hemolymph.**

KIM E.J., PARK H.J., PARK T.H.  
School of Chemical Engin. and Inst. of Chem. Proc., Seoul national Univ., Gwanak-Gu Shilim Dong San 56-1, South Korea.  
2003 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 308(3), 523-528. (E)

**cDNA cloning of a putative alcohol dehydrogenase from the silkworm, *Bombyx mori*.**

KIM I., SOO CHOI Y., SOHN H.D., JIN B.R.  
Dpt of Seric. and Entomol., National Inst. of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-100, Korea.  
2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 7(1), 51-57. (E)

**Entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* inhibits host insect molting by C22-oxidizing inactivation of hemolymph ecdysteroids.**

KIUCHI M., YASUI H., HAYASHI S., KAMIMURA M.  
National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.  
2003 *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 52, 35-44. (E)

**Sexual attraction in the silkworm moth : nature of binding of bombykol in pheromone binding protein. An ab initio study.**

KLUSAK V., HAVLAS Z., RULISEK L., VONDRASEK J., SVATOS A.  
2003 *Chemistry and Biology*, Vol. 10(4), 331-340. (E)

***Bombycis corpus* extract (BCE) protects hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity.**

KOO B.S., AN H.G., MOON S.K., LEE Y.C., KIM H.M., KO J.H., KIM C.H.  
Nat. Res. Lab. for Glyco., MOST and Dept. of Biochem. and Neuro., Col. Oriental Med., Dongguk Univ., Kyungju City, Korea  
2003 *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, Vol. 25(2), 191-201. (E)

**Role of 3,4-dihydroxyphenylalanine in the nodulation response of silkworm *Bombyx mori* L. to bacterial infection.**

KRISHNAN N., MOHANAN M., CHAUDHURI N.A., MITRA P., SARATCHANDRA B., ROY A.K.

2001 *Current Science*, Vol. 79(7), 1011-1016. (E)

**Evaluation of an enzyme immunoassay for the detection of the insect growth regulator fenoxycarb in environmental and biological samples.**

LE H.T., SZURDOKI F., SZEKACS A.

2003 *Pest Management Science*, Vol. 59(4), 410-416. (E)

**Regeneration of hemopoietic organs in the silkworm, *Bombyx mori*, after locally targeted irradiation with heavy ion beams.**

LING E., *et al.*

Lab. of Silkworm Phys., Dept. of App. Biol., Fac. of Text. Sci. and Tech., Shinshu Univ., Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 95-100. (E)

**Why does hemocyte density rise during the wandering stage of the silkworm, *Bombyx mori* ?**

LING E., *et al.*

Lab. of Silk Phys., Dpt of Applied Biol., Fac. of Textile Sci. and Tech., Shinshu Univ., Ueda, nagano 386-8567, Japan.

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 101-109. (E)

**Characterization of a novel silkworm (*Bombyx mori*) phenol UDP-glucosyltransferase.**

LUQUE T., OKANO K., O'REILLY D.R.

2002 *Eur. J. Biochem.*, Vol. 269(3), 819-825. (E)

**Taste detection of phytoecdysteroids in larvae of *Bombyx mori*, *Spodoptera littoralis* and *Ostrinia nubilalis*.**

MARION-POLL F., DESCOINS C.

2002 *J. Insect Physiol.*, Vol. 48(4), 467-476. (E)

**Identification and characterization of genes abnormally expressed in wing-deficient mutant (flugellos) of the silkworm, *Bombyx mori*.**

MATSUNAGA T.M., FUJIWARA H.

2002 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 32(6), 691-699.

**Cytotoxic activity of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins on mammalian cells transfected with cadherin-like Cry receptor gene of *Bombyx mori* (silkworm).**

MATSUURA C., FUKADA T., SUGIMOTO K., HIMENO M.

2003 *Biochem J.*, Vol. 369(pt3), 697-703. (E)

**Studies on the activity of the alkaline phosphatase in the midgut of infected silkworm, *Bombyx mori* L.**

MIAO Y.G.

2002 *Journal Applied Entomology*, Vol. 126(2/3), 138-142. (E)

**Effect of prostaglandin F2 alpha on gonadal carbohydrate metabolism of silkworm, *Bombyx mori* L.**

MIAO Y.G., BHARATHI D.

2003 *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, Vol. 70(3/4), 259-266. (E)



**Changes in growth and lipid profiles of silk gland, mid-gut biochemical composition of silkworm, *Bombyx mori* L. on exposure to prostaglandin F2 alpha.**

MIAO Y.G., JIANG L.J.

2003 *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, Vol. 70(3/4), 331-338. (E)

**Disintegration of the peritrophic membrane of silkworm larvae due to spindles of an entomopoxvirus.**

MITSUHASHI W., MIYAMOTO K.

2003 *J. Invertebr. Pathol.*, Vol. 82(1), 34-40. (E)

**Solution structure of paralytic peptide of silkworm, *Bombyx mori*.**

MIURA K., KAMIMURA M., AIZAWA T., *et al.*

2001 *Peptides*, Vol. 23(12), 2111-2116. (E)

**Letter to the Editor : H1, C13 and N15 backbone assignments of the pheromone binding protein from the silk moth *Antheraea polyphemus* (ApolPBP).**

MOHANTY S., ZUBKIV S., CAMPOS-OLIVAS R.

2003 *J. Biomolecular NMR*, Vol. 27(4), 393-394. (E)

**Pheromone gland-specific fatty-acyl reductase of the silkworm, *Bombyx mori*.**

MOTO K., YOSHIGA T., *et al.*

RIKEN, Hirosawa 2-1, Wako, Saitama 351-0198, Japan.

2003 *PNAS*, Vol. 100(16), 9156-9161. (E)

**Two-dimensional high performance liquid chromatography mapping of sugar chains demonstrated the biantennary, complex N-glycan addition to the recombinant glycoprotein produced by baculovirus-infected *Antheraea pernyi* insect cells.**

NAGAYA M., KOBAYASHI J., TAKAHASHI N., NATO K., YOSHIMURA T.

Fac. of Engineering, Mie University, Kamihama-cho 1515, Tsu, Mie 514-8507, Japan;

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 79-86. (E)

**Effects of silkworm paralytic peptide on *In Vitro* hematopoiesis and plasmotocyte spreading.**

NAKAHARA Y., KANAMORI Y., KIUCHI M., KAMIMURA M.

1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 52, 163-174. (E)

**Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity.**

NATH B.S.

2002 *Pesticide Biochem. and Physiol.*, Vol. 74(2), 73-84. (E)

**Isolation and comparison of different ecdysone-responsive cuticle protein genes in wing discs of *Bombyx mori*.**

NOJI T., OTE M., TAKEDA M., MITA K., SHIMADA T., KAWASAKI H.

Utsunomiya Univ., Faculty of Agriculture, 350 Mine, Utsunomiya, Tochigi 321-8505, Japan.

2003 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 33(7), 671-679. (E)

**Molecular cloning and expression of cDNAs encoding testis-specific and non-specific ATPase inhibitor-like proteins in *Bombyx mori*.**

OGURA I., KUSAKABE T., KAWAGUCHI Y., MAEDA T., KOGA K.

2001 *J. Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 70(2), 121-128. (E)

**B96Bom encodes a *Bombyx mori* tyramine receptor negatively coupled to adenylate cyclase.**

OHTA H., UTSUMI T., OZOE Y.

2003 *Insect Molecular Biology*, VOL. 12(3), 217-223. (E)

**Macrophage responses to silk.**

PANILAITIS B., ALTMAN G.H., CHEN J., JIN H.J., KARAGEORGIU V., KAPLAN D.L.  
 Department of Biomedical Engineering, Tufts Univ., Bioengineering Center, 4 colby street, Medford,  
 MA 02155, USA.  
 2003 *Biomaterials*, Vol. 24(18), 3079-3085. (E)

**Leucine methyl ester is a powerful allosteric activator of the neutral amino acid cotransport system in *Bombyx mori* larval midgut.**

PARENTI P., LEONARDI M.G., FORCELLA M., CASARTELLI M., et al.  
 2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(7), 719-727. (E)

**Effects of 20-hydroxyecdysone and serotonin on neurite growth and survival rate of antennal lobe neurons in pupal stage of the silkworm *Bombyx mori* in vitro.**

PARK H.H., PARK C.L., KIM K.S., KWON O.S., et al.  
 2003 *Zoologica Science*, Vol. 20(2), 111-119. (E)

**A stimulation of insulin secretion by silk fibroin hydrolysate in streptozotocin-induced diabetic rats and db/db mice.**

PARK K.J., HONG S.E., DO M.S., HYUN C.K.  
 2002 *Korean J. Pharmacology*, Vol. 33(1), 21-38. (E)

**Stimulation of nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages by the peptides derived from silk fibroin.**

PARK K.J., HYUN C.K.  
 2002 *J. Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 30(1), 39-45. (E)

**A lipase isolated from the silkworm *Bombyx mori* shows antiviral activity against nucleopolyhedrovirus.**

PONNUVEL K.M., NAKAZAWA H., FURUKAWA S., ASAOKA A., ISHIBASHI J., et al.  
 Innate Immunity Laboratory, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan.  
 2003 *J. Virol.*, Vol. 77(19), 10725-10729. (E)

**Immunohistochemical localization of clock proteins (DBT and PER), and (His7) and (Arg7)-corazonins in the cerebral ganglia of *Bombyx mori* : are corazonins downstream regulators of circadian clocks ?**

QI M.S., TANAKA S., TAKEDA M.  
 2003 *European J. Entomology*, Vol. 100(2), 283-286. (E)

**Application of artificial insemination technique to eupyrene and/or apyrene sperm in *Bombyx mori*.**

SAHARA K., TAKEMURA Y.  
 Div. of Applied Biosci., Grad. School of Agric., Hokkaido Univ., Sapporo 060-8589, Japan.  
 2003 *J. Exp. Zool. Part A Comp. Exp. Biol.*, Vol. 297(2), 196-200. (E)

**Nucleotide and deduced amino acid sequences of a cDNA encoding a lipocalin protein in the central nervous system of *Bombyx mori*.**

SAKAI M., WU C., SUZUKI K.  
 2001 *J. Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 70(2), 105-111. (E)

**Effect of carotenoid depletion on the atching rhythm of the silkworm, *Bombyx mori*.**

SAKAMOTO K., ASAI R., OKADA A., SHIMIZU I.  
 2003 *Biological Rhythm Research*, Vol. 34(1), 61-71. (E)

**Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding a novel cuticle protein in the silkworm, *Bombyx mori*.**

SAWADA H., NAKATO H., TOGAWA T., NAKAGOSHI M., et al.  
 2003 *Comp. Biochem. Physiol B Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 134(3), 519-527. (E)

**The cDNA-structure of the prothoracicotropic hormone (PTTH) of the silkworm *Hyalophora cecropia*.**

SEHNAL F., HANSEN I., SCHELLER K.  
 2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(2), 233-237. (E)

**Isolation and characterization of a human alternative complement pathway inhibiting protein from larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.**

SEKIJIMA Y., FUJIKURA Y., HIYAMA T., MAENAKA T., UDA A.  
 2001 *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 25(2), 89-100. (E)

**Interaction among silkworm ribosomal proteins P1, P2 and P0 required for functional protein binding to the GTPase-associated domain of 28S rRNA.**

SHIMIZU T., NAKAGAKI M., NISHI Y., KOBAYASHI Y., HACHIMORI A., UCHIUMI T.  
 2002 *Nucleic Acids Res.*, Vol. 30(12), 2620-2627. (E)

**Molecular cloning of the prothoracicotropic hormone from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.**

SHIONOYA M., MATSUBAYASHI H., ASAHINA M., et al.  
 Dept. of Integrated Biosci., Grad. School of Frontier Sci., Univ. of Tokyo, Kashiwanoha 5-1-5, Kashiwa 277-8562, Japan.  
 2003 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 33(8), 795-801. (E)

**Ecdysteroid-dependent expression of a novel cuticle protein gene BMCPG1 in the silkworm, *Bombyx mori*.**

SUZUKI Y., MATSUOKA T., IIMURA Y., FUJIWARA H.  
 2002 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 32(6), 599-607. (E)

**Flavonoid 5-glucosides from the cocoon shell of the silkworm, *Bombyx mori*.**

TAMURA Y., NAKAJIMA K., NAGAYASU K., TAKABAYASHI C.  
 2002 *Phytochemistry*, Vol. 59(3), 275-278. (E)

**Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma.**

TERADA S., NISHIMURA T., SASAKI M., YAMADA H., MIKI M.  
 2002 *Cytotechnology*, Vol. 40(1/3), 3-12. (E)

**Irradiation effect of different heavy ions and track section on the silkworm *Bombyx mori*.**

TU Z.L., KOBAYASHI Y., KIGUCHI K., WATANABE H.  
 2003 *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B Beam Interaction with materials and Atoms*, Vol. 209, 591.

**Small GTP binding protein: Rab GTPases from the brain of *Bombyx mori*.**

UNO T., HIRAGAKI S.  
 2003 *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 52(3), 130-138. (E)

**Cloning of anti-IPS factor cDNA from *Tachypleus tridentatus*, expression in *Bombyx larva*e and its biological activity in vitro.**

WANG D., LIU J., YANG G., ZHANG W., WU X.  
 2002 *Molecular Biotechnology*, Vol. 21(1), 1-7. (E)

**The fungicidal effect of the antibacterial peptide CM4 from Chinese silkworm on *Fusarium moniliforme*.**

XU J.S., ZHUANG S.Q.

2001 *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao*, Vol. 34(3), 177-181. (E)

**Purification, kinetic characterization and molecular cloning of a novel enzyme ecdysteroid-phosphate phosphatase.**

YAMADA R., SONOBE H.

2003 *J. Biol. Chem.*, Vol. 278(29), 26365-26373. (E)

**In vivo activation of pro-form *Bombyx* cysteine protease (BCP) in silkworm eggs : localization of yolk proteins and BCP, and acidification of yolk granules.**

YAMAHAMA Y., UTO N., TAMOSU S., MIYATA T., YAMAMOTO Y., WATABE S., TAKAHASHI S.Y

Department of Biology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu 431-3192, Japan.

2003 *J. Insect Physiol.*, Vol. 49(2), 131-140. (E)

**Polymorphism of prophenoloxidase in the silkworm, *Bombyx mori*.**

YAMAMOTO K., FUJI H., BANNO Y., ASO Y., ISHIGURO M.

2003 *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, Vol. 47(2), 319-324. (E)

**Effects of silkworm pupa oil on serum lipids level and platelet function in rats.**

YANG X., HUANG L., HU J., LI T.

2002 *Wei Sheng Yan Jiu*, Vol. 31(4), 249-251. (E)

**cDNA cloning of calcineurin heterosubunits from the pheromone gland of the silkworm, *Bombyx mori*.**

YOSHIGA T., YOKOYAMA N., IMAI N., OHNISHI A., MOTO K., MATSUMOTO S.

2002 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 32(4), 477-486. (E)

**Silk protein, sericin, suppresses DMBA-TPA-induced mouse skin tumorigenesis by reducing oxidative stress, inflammatory responses and endogenous tumor promoter TNF-alpha.**

ZHAORIGETU S., YANAKA N., SASAKI M., WATANABE H., KATO N.

## Vers à soie : oeufs, embryologie

### Silkworms: eggs, embryology

**Histological studies on the yolk granule formation in the egg character mutant, vit. of *Bombyx mori*.**

FUJIKAWA K., KAWAGUCHI Y., KUSAKABE T., KOGA K.

Lab. of Silk. Sci., Fac. of Agric., Kyushu Univ. Grad. S. hakozaeki 6-10-1, Higashi-ku 812-8581, Japan;

2003 *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 72, 111-115. (E)

**Amyloid-like fibrils from an 18-residue peptide analogue of a part of the central domain of the B-family of silkworm chorion proteins.**

ICONOMIDOU V., CHRYSOSIKOS G., GIONIS V., VRIEND G., HOENGER A., HAMODRAKA S.

2001 *FEBS Letters*, Vol. 499(3), 268-273. (E)

**Establishment and characterization of a continuous cell line from pupal ovaries of Japanese oak silkworm *Antheraea yamamai* Guerin-Meneville.**

IMANISHI S., INOUE H., KAWARABATA T., HARA K., FUNAKOSHI M., et al.

National Inst. of Agrobiol. Sci., Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

2003 *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, Vol. 39(1), 1-3. (E)

**Radiosurgery using heavy ion microbeams for biological study : fate mapping of the cellular blastoderm-stage egg of the silkworm, *Bombyx mori*.**

KIGUCHI K., SHIRAI K., KANEKATSU R., et al.

2003 *Nuclear Inst. and Methods in Physics Res., Sect B : Beam Interaction with Materials and Atoms*, Vol. 210, 312-315. (E)

**Somatic mutation in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, induced by heavy ion irradiation to diapause eggs.**

KOTANI E., FURUSAWA T., et al.

Dept. of Applied Biology, Faculty of Textile Sci., Kyoto Inst. of Tech., Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan.

2002 *J. Radiat Res.*, Vol. 43, 193-198. (E)

**Oviposition pattern of silkworm, *Bombyx mori* L.**

KOUL A., RAM K., SINGH D., ARORA R.K.

1998 *J. Insect Science*, Vol. 11(2), 169-170. (E)



**Determination of a sugar chain and its linkage site on a glycoprotein TIME-EA4 from silkworm diapause eggs by means of LC-ESI-Q-TOF-MS and MS/MS.**

KURAHASHI T., MIYAZAKI A., MURAKAMI Y., SUWAN S., FRANZ T., ISOBE M., et al.  
*2002 Bioorganic and Medicinal Chemistry, Vol. 10(6), 1703-1710. (E)*

**Fertilized eggs obtained from transplantation of frozen ovaries and parthenogenesis in combination with artificial insemination of frozen semen of the silkworm, *Bombyx mori*.**

MOCHIDA Y.J., TAKEMURA Y., KANDA T., HORIE Y.  
*2003 Cryobiology, Vol. 46(2), 153-160. (E)*

**A GATA-binding protein expressed predominantly in the pupal ovary of the silkworm, *Bombyx mori*.**

PRIYADARSHINI P.  
*2003 Insect Biochem. and Mol. Biol., Vol. 33(6), 659. (E)*

**Characterization of the kynurenine 3-monooxygenase gene corresponding to the white egg 1 mutant in the silkworm *Bombyx mori*.**

QUAN G.X., KIM I., KOMOTO N., SEZUTSU H., OTE M., et al.  
*2002 Molecular Genetics and Genomics, Vol. 267(1), 1-9. (E)*

**Double copulation of a female with sterile diploid and polyploid males recovers fertility in *Bombyx mori*.**

SAHARA K., KAWAMURA N.  
*2002 Zygote, Vol. 10(1), 23-29. (E)*

**Application of artificial insemination technique to cupyrene and/or apyrene sperm in *Bombyx mori*.**

SAHARA K., TAKEMURA Y.  
Div. of Applied Bioscience, Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan.  
*2003 J. Exp. Zool., Vol. 297A(2), 196-200. (E)*

**Physiological and biochemical modulations during oviposition and egg laying in the silkworm, *Bombyx mori* (L.).**

SINGH T., SARATCHANDRA B., PHANI RAJ R.S.  
Central Silk Board, B.T.M. Layout, Madiwala, Bangalore 560 068, India.  
*2003 Int. J. Indust. Entomol., Vol. 6(2), 115-123. (E)*

***In vitro* analysis of *Bombyx mori* early chorion gene regulation : stage specific expression involves interactions with C/EBP-like and GATA factors.**

SOURMELI S., KRAVARITI L., LECANIDOU R.  
*2003 Insect Biochem. and Mol. Biol., Vol. 33(5), 525-540. (E)*

**Target of hydrochloric acid in acid-treatment of diapausing eggs of *Bombyx mori*.**

XU S., ZHENG B., SIMA Y., KAI H., XU J.  
*2001 Acta Entomologica Sinica, Vol. 4(12), 51-55. (E)*

**Isolation, purification, and properties of cysteine proteinase form *Bombyx mori* L. eggs.**

YARYGIN D.V., KLUNOVA S.M., FILIPPOVICH Y.B.  
*2003 Biochemistry, Vol. 86(1), 63-67. (E)*

## Vers à soie : glandes séricigènes

### Silkworms: silk glands

**Cell cycle events during the development of the silk glands in the mulberry silkworm *Bombyx mori*.**

DHAWAN S., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian institute of Science, 560012, Bangalore, India.

2003 *Development Genes and Evolution*, Vol. 213(9), 435-444. (E)

**Correlation between fibroin amino acid sequence and physical silk properties.**

FEDIC R., ZUROVEC M., SEHNAL F.

2003 *J. Biol. Chem.*, Vol. 278(37), 35255-35264. (E)

**Spider silk jeans or spider silk genes ? The future of genetic testing in the workplace.**

FEITSHANS I.L.

Cornell University, and The George Washington University, USA.

2001 *N.Y. Law Sch. J. Hum. Rights.*, Vol. 18(1), 13-49. (E)

**Evolution of spider silk proteins : insight from phylogenetic analyses.**

HAYASHI C.Y.

2002 *Molecular Systematics and Evolution, Theory and Practice*, 209-223.

**Dynamic light scattering of native silk fibroin solution extracted from different parts of the middle division of the silk gland of the *Bombyx mori* silkworm.**

HOSSAIN K.S., OCHI A., OYAMA E., MAGOSHI J., NEMOTO N.

2003 *Biomacromolecules*, Vol. 4(2), 350-359. (E)

**Mechanism of silk processing in insects and spiders.**

JIN H.J., KAPLAN D.L.

Department of Chemical & Biological Engineering, Tufts University, Medford, Massachusetts 02155, USA.

2003 *Nature*, Vol. 424(6952), 1057-1061. (E)

**Fork head alternative binding drives stage-specific gene expression in the silk gland of *Bombyx mori*.**

JULIEN E., BORDEAUX M.C., GAREL A., COUBLE P.

2002 *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 32(4), 377-387. (E)

**Cloning and expression of *Bombyx mori* silk gland elongation factor 1 gamma in *Escherichia coli*.**

KAMIIE K., NOMURA Y., KOBAYASHI S., TAIRA H., KOBAYASHI K., YAMASHITA T., *et al.*  
 2002 *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, Vol. 66(3), 558-565. (E)

**Interaction between elongation factors 1beta and 1gamma from *Bombyx mori* silk gland.**

KAMIIE K., YAMASHITA T., TAIRA H., KIDOU S., EJIRI S.  
 Dept of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Engineering, Aomori Univ., Japan.  
 2003 *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 67(7), 1522-1529. (E)

**Spinning an elastic ribbon of spider silk.**

KNIGHT D.P., VOLLRATH F.  
 2002 *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Vol. 357(1418), 219-227. (E)

**Fate mapping of the larval silk glands of *Bombyx mori* by UV laser irradiation of the egg at fertilisation.**

MYOHARA M.  
 2003 *Development Genes and Evolution*, Vol. 213(4), 178-181. (E)

**Structure determination of a peptide model of the repeated helical domain in *Samia cynthia ricini* silk fibroin before spinning by a combination of advanced solid-state NMR methods.**

NAKAZAWA Y., ASAKURA T.  
 2003 *J. Amer. Chem. Soc.*, Vol. 125(24), 7230-7237. (E)

**Construction of synthetic genes for analogs of spider silk spidroin 1 and their expression in tobacco plants.**

PIRUZIAN E.S., BOGUSH V.G., SIDORUK K.V., GOLDENKOVA I.V., MYSIUCHUK K.A., *et al.*  
 2003 *Molecular Biology*, Vol. 37(4), 554-560. (E)

**A novel TATA-box-binding factor from the silk glands of the mulberry silkworm, *Bombyx mori*.**

SRINIVASAN L., GOPINATHAN K.P.  
 2002 *Biochemical J.*, Vol. 363(3), 503-513. (E)

**Transient in vivo reporter gene assay for ecdysteroid action in the *Bombyx mori* silk gland.**

TAKAHASHI M., KIKUCHI K., TOMITA S., IMANISHI S., NAKAHARA Y., *et al.*  
 Dev. Biology Department, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 3058634, Japan.  
 2003 *Comparative Biochemistry and Physiology, Part. B* 135, 431-437.

**A new chitinase-related gene, BmChiR1, is induced in the *Bombyx mori* anterior silk gland at molt and metamorphosis by ecdysteroid.**

TAKAHASHI M., KIUCHI M., KAMIMURA M.  
 2002 *Insect Biochem. and Mol. Biol.*, Vol. 32(2), 147-151. (E)

**Upgraded expression of 5S rRNA precludes the production of fibroin by spider glands.**

VAZQUEZ E., ARROYO G., CAJIGAS I.J., CANDELAS G.C.  
 University of Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico 00931.  
 2003 *J. Exp. Zool.*, Vol. 298A(2), 128-133. (E)

**Molecular dynamics simulation of conformational change of poly(Ala-Gly) from silk I to silk II in relation to fiber formation mechanism of *Bombyx mori* silk fibroin.**

YAMANE T., UMEMURA K., NAKAZAWA Y., ASAKURA T.  
 2002 *Macromolecules*, Vol. 36(18), 6766-6772. (E)

**Amplification, cloning and sequence analysis of spider dragline silk cDNA.**

ZHANG L.S., MA H.W., LU Y.M., ZHANG J.H.

*2002 Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao, Vol. 18(5), 641-643. (E)*

**The 62-kb upstream region of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene is clustered of repetitive elements and candidate matrix association regions.**

ZHOU C.S., CONFALONIERI F., ESNAULT C., ZIVANOVIC Y., *et al.*

*2003 Gene, Vol. 312, 189-195. (E)*

## Soie

## Silk

### Preparation of silk fibroin and polyallylamine composites.

ARAI T., WILSON D.L., KASAI N., FREDDI G., HAYASAKA S., TSUKADA M.  
*2002 J. Applied Polymer Sci., Vol. 84(11), 1963-1970. (E)*

### Design expression, and structural characterization of hybrid proteins of *Samia cynthia ricini* and *Bombyx mori* silk fibroins.

ASAKURA T., KATO H., YAO J., KISHORE R., SHIRAI M.  
*2002 Polymer J., Vol. 34(12), 936-943. (E)*

### Synthesis and characterization of chimeric silkworm silk.

ASAKURA T., NITTA K., YANG M.Y., YAO J.M., NAKAZAWA Y., KAPLAND.L.  
*2003 Biomacromolecules, Vol. 4(3), 815-820. (E)*

### Comparative structure analysis of tyrosine and valine residues in unprocessed silk fibroin (silk I) and in the processed silk fiber (silk II) from *Bombyx mori* using solid-state C13, N15 and H2 NMR.

ASAKURA T., SUGINO R., YAO J.M., TAKASHIMA H., KISHORE R.  
*2002 Biochemistry, Vol. 41(13), 4415-4424. (E)*

### Determination of the torsion angles of alanine and glycine residues of model compounds of spider silk (AGG) (10) using solid-state NMR methods.

ASHIDA J., OHGO K., KOMATSU K., KUBOTA A., ASAKURA T.  
*2003 J. Biomolecular NMR, Vol. 25(2), 91-103. (E)*

### Biomaterials : silk's secrets.

ATKINS E.  
*2003 Nature, Vol. 424(6952), 1010. (E).*

### Silk's secrets.

ATKINS E.  
*2003 Nature, Vol. 424, 1010. (E)*

### Polymer nanosprings in spider capture-silk threads.

BECKER N., OROUDJEV E., et al.  
*2003 Nature Materials, Vol. 2(4), 278-283. (E)*

### Synthesizing spider silk.

BENITO B.  
*2002 Trends in Biotechnology, Vol. 20(5), 189. (E)*



**Dissolution and enzymatic degradation studies before and after artificial ageing of silk- or linen-reinforced gelatin laminates, I-enzymatic degradation.**

BOYANOVA M., STAMBOLIEVA N., APOSTOLOV A.A., FAKIROV S.

2003 *Macromolecular Materials and Engineering*, Vol. 288(5), 407-411. (E)

**Dissolution and enzymatic degradation studies before and after artificial ageing of silk- or linen-reinforced gelatin laminates, I-non enzymatic solubilization.**

BOYANOVA M., STAMBOLIEVA N., APOSTOLOV A.A., FAKIROV S.

2003 *Macromolecular Materials and Engineering*, Vol. 288(5), 399-406. (E)

**Modelling self assembly of natural silk solutions.**

BRAUN F.N., VINEY C.

Dept of Biochemistry and Biophysics and Stockholm Bioinformatics Center, Stockholm Univ., 10691, Stockholm, Sweden;

2003 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 32(3-5), 59-65. (E)

**Influence of different surface modification treatments on poly(D,L-lactic acid) with silk fibroin and their effects on the culture of osteoblast in vitro.**

CAI K.Y., YAO K.D., CUI Y.L., YANG S.M., LI X.Q., XIE H.Q., QING T.W., GAO L.B.

2002 *Biomaterials*, Vol. 23(7), 1603-1611. (E)

**Using an aqueous epoxide in *Bombyx mori* silk fabric finishing.**

CAI Z.S., QIU Y.P.

2003 *Textile Research J.*, Vol. 73(1), 42-46. (E)

**Grafting of ethylene glycol dimethacrylate into silk in aqueous alcoholic solution.**

CHEN G.Q., XING T.L., HUANG C.R., ZHOU X.

2003 *Chinese J. Polymer Science*, Vol. 21(1), 51-56. (E)

**Preparation and characterization of noble metal nanocolloids by silk fibroin in situ reduction.**

CHEN W.X., WU W., CHEN H.X., SHEN Z.Q.

2003 *Science in China, Series B: Chemistry*, Vol. 46(4), 330-338. (E)

**Preparation of self-assembled silk sericin nanoparticles.**

CHO K.Y., MOON J.Y., LEE Y.W., LEE K.G., YEO J.H., KWEON H.Y., KIM K.H., CHO C.S.

2003 *International J. Biological Macromolecules*, Vol. 32(1/2), 36-42. (E)

**A new model of DC conductivity of hygroscopic solids - part II : wool and silk.**

CHRISTIE J.H., WOODHEAD I.M., KRENEK S., SEDCOLE J.R.

2002 *Textile Research J.*, Vol. 72(4), 303-308. (E)

**The unique ribbon morphology of the major ampullate silk of spiders from the genus *Loxosceles* (Recluse spiders).**

CODDINGTON J.A., CHANZY H.D., JACKSON C.L., RATY G., GARDNER K.H.

2002 *Biomacromolecules*, Vol. 3(1), 5-8. (E)

**Elastic theory of single spider silk protein molecule.**

DAI L.R., ZHANG Y., OU-YANG Z.C.

2003 *Thin Solid Films*, Vol. 438, 382-385. (E)

**Grafting vinyl monomers onto silk fibres : graft copolymerization of methylmethacrylate (MMA) into *Antheraea assama* silk fibre.**

DAS A.M., SAIKIA C.N.

2002 *Indian J. Chemical Technology*, Vol. 9(1), 41-46. (E)

**Chitin-silk fibroin interactions : relevance to calcium carbonate formation in invertebrates.**

FALINI G., WEINER S., ADDADI L.

*2003 Calcified Tissue International, Vol. 72(5), 548-554. (E)***Correlation between fibroin amino acid sequence and physical silk properties.**

FEDIC R., ZUROVEC M., SEHNAL F.

Institute of Entomology, Academy of Sciences.

*2003 J. Biol. Chem., Vol. 278(37), 35255-35264. (E)***Active control of spider silk strength : comparison of drag line spun on vertical and horizontal surfaces.**

GARRIDO M.A., ELICES M., VINEY C., PEREZ-RIGUEIRO J.

*2002 Polymer, Vol. 43(4), 1537-1540. (E)***Thermal characterization of social vespid silk.**

GOLODNITSKY D., ULUS A., ISHAY J.S.

*2003 J. Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 73(1), 85-96. (E)***Self-tightening of spider silk fibers induced by moisture.**

GUINEA G.V., ELICES M., PEREZ-RIGUEIRO J., PLAZA G.

*2003 Polymer, Vol. 44(19), 5785-5788. (E)***Determining dihedral angles and local structure in silk peptide by <sup>13</sup>C-(<sup>2</sup>H) REDOR.**

GULLION T., KISHORE R., ASAKURA T.

Department of Chemistry, West Virginia University, Morgantown, West Virginia 26506.

*2003 J. Am. Chem. Soc., Vol. 125(25), 7510-7511. (E)***Dissolution of *Bombyx mori* silk fibroin in the calcium nitrate tetrahydrate-methanol system and aspects of wet spinning of fibroin solution.**

HA S.W., PARK Y.H., HUDSON S.M.

*2003 Biomacromolecules, Vol. 4(3), 488-496. (E)***Mechanical properties of chitosan-treated wild silk sheets from *Antheraea yamamai*.**

HANANOUCHE T., KAWAHARA Y., KIMURA T.

*2003 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 72(1), 19-21. (J)***Vacuum permeation before cooking improves reelability of cocoons.**

HARIRAJ G., NAIK S.V., MAHESH K.N., SHILLIN S.N., SOMASHEKAR T.H.

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, Bangalore, India.

*2003 Indian Silk, Vol. 42(5), 20-22. (E)***Change in secondary structure of silk fibroin during preparation of its microspheres by spray-drying and exposure to humid atmosphere.**

HINO T., TANIMOTO M., SHIMABAYASHI S.

Faculty of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokushima, Sho-machi 1-78-1, 770-8505, Tokushima, Japan.

*2003 J. Colloid Interface Sci., Vol. 266(1), 68-73. (E)***Dilute-solution properties of regenerated silk fibroin.**

HOSSAIN K.S., OHYAMA E., OCHI A., MAGOSHI J., NEMOTO N.

*2003 J. Physical Chemistry, B, Vol. 107(32), 8066-8073. (E)*

**Single-strand spider silk templating for the formation of hierarchically ordered hollow mesoporous silica fibers.**

HUANG L.M., WANG H.T., HAYASHI C.Y., TIAN B.Z., ZHAO D.Y., YAN Y.S.  
 2003 *J. Materials Chemistry*, Vol. 13(4), 666-668. (E)

**Comments on changes in chinese raw silk standards (GB 1797-2001, spring 2002)**

International Silk Association  
 2002

**Preparation of silk film and its plasma treatment for better dyeability.**

IRIYAMA Y.  
 2003 *J. Photopolymer Science and Technology*, Vol. 16(1), 75-80. (E)

**Resist printing of silk using natural dyes.**

JAIWAL G., PAUL S.  
 Department of Clothing & Textiles, G.B.P.U.A. & T., Pantnagar, India.  
 2003 *Indian Silk*, Vol. 42(2), 18-20. (E)

**Change on feeling of chitosan-treated tussah silk fabric by wet cleaning.**

KAKO T., KOMURASAKI K., SAEKI M., NAKAYAMA A.  
 2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(1), 1-5. (J)

**Determination of intermolecular distance for a model peptide of *Bombyx mori* silk fibroin, GAGAG with rotational echo double resonance.**

KAMEDA T., NAKAZAWA Y., KAZUHARA J., YAMANE T., ASAKURA T.  
 2002 *Biopolymers*, Vol. 64(2), 80-85. (E)

**Determination of distance of intra-molecular hydrogen bonding in (Ala-Gly)(15) with silk I form after removal of the effect of MAS frequency in REDOR experiment.**

KAMEDA T., ZHAO C.H., ASHIDA J., ASAKURA T.  
 2003 *J. Magnetic Resonance*, Vol. 160(2), 91-96. (E)

**Stability of carthamin and safflor yellow B on silk powders under continuous irradiation of fluorescent or UV-C light.**

KANEHIRA T., SAITO K.  
 2001 *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, Vol. 34(2), 55-59. (E)

**The properties and light stability of silk adhered to sheer silk and polyester support fabrics with poly(vinyl acetate) copolymer adhesives.**

KARSTEN I.F., KERR N.  
 2002 *Studies in Conservation*, Vol. 47(3), 195-210. (E)

**Consolidation and amelioration of salted sandy soils using a compound of acetone-formaldehyde resin with silk sericin.**

KHOLMUMINOV A.A., AVAZOVA O.B., MIRKHAIDAROVA Y.N., RUBAN I.N., RASHIDOVA S.S.  
 2003 *Russian J. Applied Chemistry*, Vol. 76(5), 775-777. (E)

**Silk fibroin nanofiber, electrospinning, properties, and structure.**

KIM S.H., NAM Y.S., LEE T.S., PARK W.H.  
 2003 *Polymer J.*, Vol. 35(2), 185-190. (E)

**Synthesis and conformational study of silk model polypeptides (Ala-Gly)(12) by solid-state NMR.**

KISHI S., SANTOS A., ISHII O., ISHIKAWA K., et al.  
 2003 *J. Molecular Structure*, Vol. 649(1-2), 155-167. (E)

**The dimensional stability and hand values corresponding to the laundering of crepes made of super hybrid silk, blended yarns of silk and nylon.**

KURIOKA F., AOKI A.  
 The Silk Sci. Res. Inst. of the Dainippon Raw Silk Foundation, Hyakunincho3-25-1, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan.  
 2003 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 72(2), 65-70. (J,e)

**Silk fibroin microsphere and its characterization.**

LEE K.G., YEO J.H., LEE Y.W., KWEON H.Y., WOO S.O.  
 Dpt of Sericulture and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-100, Korea.  
 2003 *Int. J. Indust. Entomol.*, Vol. 6(2), 151-155. (E)

**Compliant film of regenerated *Antheraea pernyi* silk fibroin by chemical crosslinking.**

LI M., TAO W., LU S., KUGA S.  
 Material Engineering Institute, Suzhou Univ., Campous Box 64, N 178, East Gan-Jiang Roza, 215021, Suzhou, PR China.  
 2003 *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 32(3-5), 159-163. (E)

**Structure and properties of silk fibroin-poly(vinyl alcohol) gel.**

LI M.Z., LU S.Z., WU Z.Y., TAN K., MINOURA N., KUGA S.  
 2002 *International J. Bioblogical Macromolecules*, Vol. 30(2), 89-94. (E)

**Uptake at atmospheric carbon dioxide into silk fiber by silkworms.**

MAGOSHI J., TANAKA T., SASAKI H., KOBAYASHI M., et al.  
 2003 *Biomacromolecules*, Vol. 4(3), 778-782. (E)

**Studies of mechanical and moisture regain properties of methyl methacrylate grafted silk fibers.**

MAJI T.K., BASU D., DATTA C., BANERJEE A.  
 2002 *J. Applied Polymer Science*, Vol. 84(5), 969-974. (E)

**The ESR signals in silk fibroin and wool keratin under both the effect of UV-irradiation and without any external effects and the formation of free radicals.**

MAMEDOV S.Y., AKTAS B., CANTURK M., AKSAKAL B., et al.  
 2002 *Biomaterials*, Vol. 23(16), 3405-3412. (E)

**Vibrational <sup>13</sup>C-cross-polarization/magic angle spinning NMR spectroscopic and thermal characterization of poly(alanine-glycine) as model for silk I *Bombyx mori* fibroin.**

MONTI P., TADDEI P., FREDDI G., OHGO K., ASAKURA T.  
 Dipartimento di Biochimica G. Moruzzi, Universita di Bologna, Via Belmeloro 8/2, 40126 Bologna, Italy.  
 2003 *Biopolymers*, Vol. 72(5), 329-338. (E)

**Serum protein absorption on silk fibroin fibers and films : surface opsonization and binding strength.**

MOTTA A., MIGLIARESI C., LLOYD A.W., DENYER S.P., SANTIN M.  
 2002 *J. Bioactive and Computible Polymers*, Vol. 17(1), 23-35. (E)

**Properties of concentrated solutions of fibroin and its derivatives.**  
 MUKHAMEDZHANOVA M.Y., TAKHTAGANOVA D.B., PAK T.S.  
 2001 *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 37(4), 377-380. (E)

**Structures and physical properties of cross-linked sericin membranes.**  
 NAGURA M., OHNISHI R., GITOH Y., OHKOSHI Y.  
 2001 *J. Insect Biotechnology and Sericology*, Vol. 70(2), 149-153. (E)

**High-resolution C<sup>13</sup> CP/MAS NMR study on structure and structural transition of *Antheraea pernyi* silk fibroin containing poly(L-alanine) and gly-rich regions.**  
 NAKAZAWA Y., ASAKURA T.  
 2002 *Macromolecules*, Vol. 35(6), 2393-2400. (E)

**Structure determination of a peptide model of the repeated helical domain in *Samia cynthia ricini* silk fibroin before spinning by a combination of advanced solid-state NMR methods.**  
 NAKAZAWA Y., ASAKURA T.  
 Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.  
 2003 *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 125(24), 7230-7237. (E)

**Tightly winding structure of sequential model peptide for repeated helical region in *Samia cynthia ricini* silk fibroin studied with solid-state NMR.**  
 NAKAZAWA Y., BAMBA M., NISHIO S., ASAKURA T.  
 2003 *Protein Science*, Vol. 12(4), 666-671. (E)

**Rheological properties of dilute solutions of natural silk fibroin in N-methylmorpholine oxide.**  
 NOVOSELOV N.P., SASHINA E.S.  
 2003 *Russian J. Physical Chemistry*, Vol. 77(5), 761-763. (E)

**Electron paramagnetic resonance and ultraviolet/visible study of compounds I and II in the horseradish peroxidase-H2O2-silk fiber reaction system.**  
 OLIVA C., FREDDI G., REPETTO S., AMBROSIO A.  
 2003 *Spectroscopy Spectrochimica Acta*, Vol. 59(8), 1911-1917. (E)

**Segmented nanofibers of spider dragline silk : atomic force microscopy and single-molecule force spectroscopy.**  
 OROUDJEV E., SOARES J., ARCIDIACONO S., THOMPSON J.B., FOSSEY S.A., HANSMA H.G.  
 2002 *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, Vol. 99(2), 6460-6465. (E)

**Dyeing of silk with "Babool".**  
 PATEL B.H., AGARWAL B.J., PATEL P.G.  
 M.S., University of Baroda, Vadodara, India.  
 2003 *Indian Silk*, Vol. 42(4), 17-21. (E)

**Controlled supercontraction tailors the tensile behaviour of spider silk.**  
 PEREZ-RIGUEIRO J., ELICES M., GUINEA G.V.  
 2003 *Polymer*, Vol. 44(13), 3733-3736. (E)

**Effect of degumming on the tensile properties of silkworm (*Bombyx mori*) silk fiber.**  
 PEREZ-RIGUEIRO J., ELICES M., LLORCA J., VINEY C.  
 2002 *J. Applied Polym. Sci.*, Vol. 84(7), 1431-1437. (E)



**Effect of processing temperature on the morphology of silk membranes.**

PUTTHANARAT S., ZARKOUB S., MAGOSHI J., CHEN J.A., EBY R.K., *et al.*  
 2002 *Polymer*, Vol. 43(12), 3405-3413. (E)

**Impact of duration of degumming on silk quality.**

RAGHUNATH REDDY G.V., ANANTH KRISHNAN T.  
 S.K.S.J.T. Institute, Bangalore, India.  
 2003 *Indian Silk*, Vol. 42(6), 26-28. (E)

**Position lifetime study of thermally induced microstructural changes in *Nistari* silk fiber.**

RANGANATHAIAH C.  
 2003 *Chinese J. Polymer Science*, Vol. 21(3), 325-332. (E)

**Self-diffusion of water into silk fibers from magnetic field pulse gradient data.**

RODIN V.V., KNIGHT D.P.  
 MATI-Russian State Technological University, Orshanskaya ul. 3, Moscow, 21552 Russia.  
 2003 *Biofizika*, Vol. 48(3), 429-435. (R)

**Dissolution of silk fibroin in N-methylmorpholine-N-oxide and its mixtures with organic solvents.**

SASHINA E.S., NOVOSELOV N.P., HEINEMANN K.  
 2003 *Russian J. of Applied Chem.*, Vol. 76(1), 128-131. (E)

**Production of spider silk proteins in tobacco and potato.**

SHELLER J., GUEHRS K.H., GROSSE F., CONRAD U.  
 2001 *Nature Biotechnology*, Vol. 19(6), 573-577. (E)

**Structure and behavior of regenerated spider silk.**

SHAO Z.Z., VOLLRATH F., YANG Y., THOGERSON H.C.  
 2003 *Macromolecules*, Vol. 36(4), 1157-1161. (E)

**Analysis of structure/property relationships in silkworm (*Bombyx mori*) and spider dragline (*Nephila edulis*) silks using raman spectroscopy.**

SIRICHAISIT J., BROOKES V.L., YOUNG R.J., VOLLRATH F.  
 2003 *Biomacromolecules*, Vol. 4(2), 387-394. (E)

**Structure-property relation in varieties of acid dye processed silk fibers.**

SOMASHEKARAPPA H., ANNDURAI V., SANGAPPA, SUBRAMANYA G., SOMASHEKAR R.  
 2002 *Materials letters*, Vol. 53(6), 415-420. (E)

**Regeneration of *Bombyx mori* silk by electrospinning. Part 1 : Processing parameters and geometric properties.**

SUKIGARA S., GANDHI M., AYUTSEDE J., MICKLUS M., KO F.  
 2003 *Polymer*, Vol. 44(19), 5721-5727. (E)

**IR study on the binding mode of metal cations to chemically modified *Bombyx mori* and Tussah silk fibres.**

TADDEI P., MONTI P., FREDDI G., ARAI T., TSUKADA M.  
 2003 *J. Molecular Structure*, Vol. 651, 433-441. (E)

**Deposition of bone-like apatite on silk fiber in a solution that mimics extracellular fluid.**

TAKEUCHI A., OHTSUKI C., MIYAZAKI T., *et al.*  
 2003 *J. Biomedical Materials Research, Part A*, Vol. 65A(2), 283-289. (E)

**Silk : molecular organization and control of assembly.**

VALLUZZI R., WINKLER S., WILSON D., KAPLAN D.L.

*2002 Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Vol. 357(1418), 165-167. (E)***Microstructure and chemical states of hydroxyapatite/silk fibroin nanocomposites synthesized via a wet-mechanochemical route.**

WANG L., NEMOTO R., SENNA M.

*2002 J. Nanoparticle Res., Vol. 4(6), 535-540. (E)***Properties of silk fibroin/poly(ethylene glycol) 400 blend films.**

WANG S., WANG Q.H., YANG X.L., WANG L.Y., ZHU H.S.

*2002 Chinese J. Polymer Science, Vol. 21(1), 87-91. (E)***Preparation of O-carboxymethyl chitosans and their effect on color yield of acid dyes on silk.**

WY Y.G., CHAN W.L., SZETO Y.S.

*2003 J. Applied Polymer Science, Vol. 90(9), 2500-2502. (E)***AFM Observation of silk fibroin on mica substrates : morphologies reflecting the secondary structures.**

YAMADA K., TSUBOI Y., ITAYA A.

*2003 Thin Solid Films, Vol. 440(1/2), 208-216. (E)***Synthesis and structural characterization of silk-like materials incorporated with an elastic motif.**

YAO J., ASAKURA T.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588.

*2003 J. Biochem., Vol. 133(1), 147-154. (E)***The effects of PVA/Chitosan/Fibroin (PCF) blended spongy sheets on wound healing in rats.**

YEO J.H., LEE K.G., KIM H.C., OH Y.L., KIM A.J., KIM S.Y.

*2000 Biol. Pharm. Bull., Vol. 23(10), 1220-1223. (E)***Simple preparation and characteristics of silk fibroin microsphere.**

YEO J.H., LEE K.G., LEE Y.W., KIM S.Y.

*2003 European Polymer J., Vol. 39(6), 1195-1199. (E)***Applications of natural silk protein sericin in biomaterials.**

ZHANG Y.

*2002 Biotechnology Advances, Vol. 20(2), 91-100. (E)***Structural characterization and artificial fiber formation of *Bombyx mori* silk fibroin in hexafluoro-iso-propanol solvent system.**

ZHAO C., YAO J., MASUDA H., KISHORE R., ASAKURA T.

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agric. and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan.

*2003 Biopolymers., Vol. 69(2), 253-259. (E)***Silk fibroin: structural implications of a remarkable amino acid sequence.**

ZHOU C., CONFALONIERI F., JACQUET M., PERASSO R., LI Z., JANIN J.

*2001 Proteins, Vol. 44(2), 119-122. (E)*

## INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux, soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4<sup>ème</sup> édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 × 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés à part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés à part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés à part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

## 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.

