

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

B. MAUCHAMP
G. CHAVANCY

Managing Director
Chief Editor

COMITE DE REDACTION
EDITORIAL BOARD

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

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

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH ALLIED INDUSTRIES IN INDIA

P. K. SRIVASTAV, S. CHAKRABARTI & M.A. KHAN*

Regional Sericultural Research station, Sahaspur, Dehradun - 248 197, India.

The ever increasing need for food, clothing, shelter and medicine due to population explosion have forced human beings to find out ways and means for increasing economic returns from unit area of land. The present trend of silk production has been showing a decline in mulberry acreage due to water scarcity, fluctuating trends in rainfall, non-availability of skilled labour, high cost of inputs and comparatively low cost of cocoons in the market. Mulberry is cultivated as trees in rain-fed conditions in North-western Himalayan states for sericulture. The gestation period between transplantation of saplings to full-fledged tree is 4-5 years during which farmers and government farms do not earn much from sericulture. Also, when trees become capable of sustaining rearing farmers do not earn much due to bivoltine rearings in this region and their nine months go in vain since they remain busy only during three months when spring and autumn crops are reared. Hence, blending of sericulture with agriculture, horticulture, pisciculture, silviculture and dairy shall not only increase the income of the farmers but also supplement and facilitate each other in ecofriendly manners. Further, a lot of scope exists for by-product utilisation and commercial exploitation of new products from sericulture in cosmetic, furniture, tannin, leather, pharmaceutical, food, soap and other industries which may enhance the earning of farmers 5-6.5 times more as compared to traditional cocoon production alone. Present communication deals with integration of sericulture with aforesaid allied industries for enhancing income of farmers and government farms.

Keywords: Mulberry cultivation, intercropping, integration, sericulture, agriculture, horticulture, pisciculture, dairy, forestry and pharmaceutical industries.

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH AGRICULTURE AND HORTICULTURE

Multicropping and intercropping are the best ways for integrating sericulture with agriculture and horticulture. In fact, intercropping in mulberry is already practiced by some farmers especially during its establishment. The low canopy of mulberry plants during the establishment period and wider spacing between the rows may successfully be utilised for cultivation of short duration cash crops to fetch additional income from the same area of land, because proper establishment of mulberry from planting to first leaf harvest for sericulture takes either 6-8 or 3-5 months or more in tropics for the gardens planted with cuttings and saplings respectively.

In tropical regions the irrigated mulberry is cultivated under either row system with spacings ranging from 61 cm × 15.3 cm to 91.5 cm × 91.5 cm or under pit system with spacing ranging from 61 cm × 61 cm to 122 cm × 122 cm or (244 cm + 61 cm) × 61 cm. On the contrary, rain fed mulberry is cultivated only under pit system with wider plant spacing of 183 cm × 183 cm, 244 cm × 244 cm, 244 cm × 274.5 cm and 305 cm × 305 cm. In case of tropical tasar culture 122 cm × 122 cm, 183 cm

* Central Sericultural Research & Training institute, Pampore, Srinagar-190001, India.

× 183 cm, 244 cm × 244 cm, muga culture 183 cm × 183 cm, 274.5 × 274.5 cm, 366 cm × 366 cm, oak tasar culture 122 cm × 122 cm, 122 cm × 183 cm, 183 cm × 183 cm and eri culture 91.5 cm × 91.5 cm, 183 cm × 183 cm, 274.5 cm × 274.5 cm, 366 cm × 366 cm spacings are followed. All these spacings are indeed appropriate for inter cropping during the initial establishment/gestation phase. In case of mulberry food plants, however, 91.5 cm × 91.5 cm and 122 cm × 122 cm spacings do not allow penetration of sunlight after establishment. Therefore, for intercropping all the mulberry food plants should be raised at more than 183 cm × 183 cm spacing. 244 cm × 244 cm or 305 cm × 305 cm spacing for mulberry food plants will be most suitable for intercropping even after establishment since their pruning is resorted at above 152.5 cm as trees. The bottom pruning of mulberry allows uniform sunlight to intercropping while pruning of non-mulberry plants at above 122 cm causes shadows in the field if spacing is below 183 cm × 183 cm which is not much suitable for intercropping in both pruned as well as unpruned plants.

Since majority of sericulture farmers have very small land holdings and depend mainly upon family labour and simple tools, they neither have the capacity to take risk nor have enough land to diversify the cropping system. Thus, by growing other crops of short duration along with mulberry, the farmers can get additional benefit of intercrop besides the mulberry leaf yield which ensures higher income per unit land area. Koul *et al.* (1996) have opined that intercropping of vegetables during winter in mulberry plantation can be taken without any harm to plant and indirectly the silkworm rearing. A detailed technology for intercropping has been discussed by Sinha *et al.* (1987). However, additional dose of fertilizer and F.Y.M. should be added to intercrop in addition to rate applicable to mulberry plants as per recommendations (Anonymous, 1995).

(a) Choice for intercropping

The intercrops fulfilling the characteristics of short duration, low canopy, shade loving, low input requirement and high remuneration should be selected for cultivation alongwith mulberry and non-mulberry food plants. The intercrops showing higher competition with sericigenous plants/flora with high canopy adversely affects their growth while heliophytic low canopy intercrops does not grow under the shade of sericegenous flora. Not only this, besides increasing the net return per unit area, the right intercrop also improves soil fertility and ensures against natural calamities and facilitates better control of weeds, pests and diseases. Short duration legume crops like urd (70 days), soya beans (90 days) and black grams (90 days) are intercrops for mulberry plants during their establishment. Intercropping in mulberry appears to be more suitable system when the dynamic properties like constancy in yield from year to year (stability), ability to survive in stress periods (resilience) and extent of system for operating for indefinite priod (durability) is existing (Shukla *et al.*, 1989).

Mane *et al.* (2000) found that the highest mulberry leaf yield was obtained in sole mulberry plot which was at par with mulberry intercropped in Palak and French bean whereas least mulberry leaf yield was recorded in *Amaranthus* intercropping. The highest intercrop yield was recorded in *Amaranthus* followed by Palak, French bean, Mentae and Coriander while no yield was obtained when Onion, Okra and Cluster bean were intercropped with mulberry which may be due to the fact that the duration of these crops are more as compared to other crops used during their studies. Hence, intercropping of Palak can be taken up in the mulberry garden without any harm to neither mulberry leaf yield nor silkworm rearing.

Owing to the prevalence of high temperature up to 47° C and low humidity as low as 25% during summer in Purvanchal Region of Uttar Pradesh, silkworm (N × NB4D2 or PM × NB4D2) rearing should commence from 29th March to 2nd April so that the rearing is completed by 25th April before the temperature and humidity become hostile for mulberry silkworm growth. Under these circumstances, farmers have been advised to undertake one intercrop of urd [*Vigna mungo* (Lin.) Hepper] or moong [*Vigna radiata* (Lin.) Wilczek syn. *P. radiatus* Linn.] in 91.5 cm × 91.5 cm or 122 cm × 61 cm spacing during mid April to first week of July when summer rearing is in progress.

The germination and growth of urd and moong are not affected as mulberry leaves are used for rearing of silkworms. During rearing weekly and after rearing fortnightly irrigation is recommended which also saves mulberry plants during summer. Weeding and other cultural operations are not required as moong and urd do not allow growth of weeds. Pruning of mulberry and harvesting of these intercrops are undertaken during first week of July at the onset of monsoon. After harvesting from upper portion containing pods remaining plant material is incorporated into the soil by digging to provide organic matter in the mulberry plantation. Besides, urd and moong also add additional nitrogen in soil by fixing it from atmosphere. A total of 125 kg. of moong or urd may be harvested from such intercropping. Hence, besides income from silkworm rearing during April, the summer intercrop will provide an additional income of Rs.2000/- from an acre of mulberry garden to the farmers apart from enhancing soil fertility and improving the soil texture (Gargi *et al.*, 1997).

In Uttaranchal region intercropping of Lentil and Moong at $(244\text{ cm} + 61\text{ cm}) \times 61\text{ cm}$ spacings of mulberry bushes gives maximum returns of Rupees 33,815/- from the cost of cocoons harvested by utilising mulberry leaves and the cost of intercrops thereby facilitating net gain of Rs. 22,958/- from one acre of mulberry plantation during spring and autumn seasons (Singh *et al.*, 2003). An experiment being conducted during 2005 by Directorate of Sericulture, Govt. of Uttaranchal in Govt. Silk Farm, Akkad (Pathari), Haridwar, where farmers have been allotted mulberry plantations, has been found extremely successful. Besides silkworm rearing during spring and autumn seasons rest of the lean period is being utilised by farmers for cultivation of various vegetables as intercrops in the Silk Farm. This Farm is spread in 17.5 Ac. and mulberry trees are planted here in $183\text{ cm} \times 183\text{ cm}$ to $305\text{ cm} \times 305\text{ cm}$ spacings. Five bigha area is allotted to each farmer who cultivate Radish, Turnip, Spinach, Cabbage, Fenugreek, Mustard, Garlic, Onion, Turmeric, Coriander and Bakla. Radish and Turnip are cultivated on the ridges between two rows of mulberry trees.

In Tamil Nadu the preferential choice of farmers are onion, grams and coriander. Onion, Coriander, Chillies and Maize are grown on the ridges usually in between the two rows of mulberry farming a ridge. Tomato and brinjal are cultivated at the edge of the ridges to provide them sufficient space for spreading and protecting their roots from excess of water flowing in the furrows during irrigation. On the contrary, pulses like urd bean, soyabean, black gram and horse gram are grown in the furrows. Despite of high profits certain crops like Chillies (Rs.5,000/- per acre) should not be cultivated in sericulture farms due to their ill effects on the silkworms. Most of the intercrops are sown after south-west monsoon (June-July) and north-east monsoon (Oct.-Nov.) when the weather conditions favour these crops in Tamil Nadu. Onion, tomato, brinjal, lady's finger and maize provided an additional income of Rs.3000-4000/- per acre whereas pulses provided lesser income of Rs.2500-2000/- per acre in Tamil Nadu before 1990, yet actual return varied from farmer to farmer due to variation in spacing of mulberry plants, density of intercrops and also the techniques of the farmers (Gangwar and Thangavelu, 1991).

The soils of hills of West Bengal, mostly sandy loam, have high levels of organic matter with humus and pH ranging from 4.1-6.7. The farming in the area is mostly rainfed or irrigated only through spring and small rivulets locally known as "Jhora" which also depend on rain. The prevailing agroclimatic conditions are suitable for mulberry as well as turmeric. Turmeric grows well under warm and moist climate at higher altitude in loamy or alluvial soil. It cannot withstand water logging, gravelly, stony or heavy clayey conditions which are unsuitable for the development of rhizomes. However, it can tolerate pH range from 5-7.5. The farmers have been taking mulberry and turmeric as monocrops and not getting good yields due to various factors. The farmers harvest mulberry leaves three times during April, June and September for silkworm rearing whereas turmeric is sown during April and harvested during November. Monocropping and intercropping of turmeric in between the rows of mulberry plants ($61\text{ cm} \times 61\text{ cm}$ spacing) with the same doses of fertilizers and FYM application resorted to sole crop of mulberry revealed that leaf yield (30.68 kg/plot) decreases by 8.47% in mulberry but the yield of turmeric rhizome (7.68 kg/plot) is increased by 10.98% as against their sole monocrops (33.52 and 6.92 kg/plot respectively). When economics of intercropping with

mulberry was calculated it was found that net profit from sole crops of mulberry and turmeric was Rs.30,710/- and Rs.14,400/- respectively. While combined intercropping of turmeric with mulberry yielded net profit of Rs.33,340/- during 1990-91. Hence, the net profit was increased by 8.56% from the same piece of land without any additional investment. Further, as the turmeric needs heavy manuring combined cultivation of legumes may be introduced to cover the soil, improve physical condition and fertility of soil through nitrogen fixation by root nodules (Tikader, 1991).

(b) Choice for mixed cropping

Cultivation of mulberry in other perennial plantations as a mixed crop is not a common practice yet in Mandya, Bangalore and Tumkur district of Karnataka coconut is popular associate of sericulture. Besides, in Dharwad districts (Karnataka) some farmers have planted mulberry in existing guava plantations while some other farmers have simultaneously raised the two plantations together due to following reasons:

1. Mixed cropping generates subsistence income from sericulture during waiting period till the main crop comes to bearing. Guava, sapota and mango etc. take 3-4 years while coconut takes 6-8 years for bearing after plantation.

2. Mixed cropping generates higher income in the long run from same piece of land through horticultural as well as sericultural produce.

3. Mixed cropping increases the efficiency of usage of solar energy, soil nutrients and other agricultural inputs due to multi-tier crop pattern. While the fruit trees require proportionately higher quantity of potash, mulberry requires more of nitrogen. Such differential requirement for the three major (NPK) plant nutrients reduces the competition between the plant species to some extent.

4. Mixed cropping provides a protective covering to the exposed soil. Exposure of land directly to sunlight, wind, rainfall etc., raises the soil temperature, accelerates decomposition of organic matter, reduces infiltration of rain water, enhances rate of evaporation and reduces/ prevents entry of air into soil.

Mulberry a deep-rooted perennial plant with rapid vegetative growth comes to bearing within 6-8 months after planting and under bush system of cultivation it does not form spreading crown. There is no soil exposure after its establishment and repeated tillage is not required. At the same time it also reduces the intensity of shade considerably due to repeated harvesting of leaves at an interval of 2-3 months. Hence, it can serve as most suitable mixed crop for guava, sapota, citrus, lemon, pomegranate and papaya and similar other fruit plantations due to their moderate crown size and measurements. According to Bongale (1990) following points help in establishing mulberry as a mixed crop in plantation of fruit crops.

i. An area of about 152.5 cm radius be left uncultivated around each tree and mulberry should be planted in rest of the area.

ii. A trench of about 61 cm depth be dug around each tree to prevent the roots of mulberry competing with those of fruit trees.

iii. Mulberry be planted preferably at a close spacing by row system between the fruit trees so as to restrict the root growth of mulberry for reducing competition between the two crops.

iv. Nutritional requirements of mulberry and fruit trees be met separately as per respective recommendations.

v. Spraying of plant protection chemicals be carried out with sufficient safe period for silkworm rearing.

vi. Mulberry plantation be renewed every ten years by uprooting old ones and planting new ones for preventing severe competition between the two crops and facilitate optimum harvest of the fruits.

The subject area for innovation of more efficient agricultural system for cultivation of mulberry with various fruit trees is widely open.

(c) Sericigenous plants as food / Ornamentals

Mulberry fruits are eaten directly as fresh fruits. Besides, they are also used for preparing pickles, jam, jelly, sherbut and wine because of their high nutritional and medicinal value. Mulberry fruits are also consumed directly by avies fauna (crows, minibirds), insects (pentatomid bugs and ants) and canines (dogs) in the ecosystem.

Chitin, a derivative of n-acetylglucosamine is derived from cuticle of silk worms and exo-skeleton of pupae. It is used as an additive to increase the loaf volume of wheat flour bread from about 4.9 to 6.0 cm³/gm since it has more water binding capacity than micro-cellulose.

The degreen silkworm faeces yields about 10% pectin which can be used as a thickener in candy, jelly, jam, concentrated fruit juice and as stabilizer in ice cream. It can reduce blood triglyceride and cholesterol and has bacteriostasis and detoxification activity (Majumder, 1992).

One of the Russian mulberry varieties with drooping branches, when grafted at a height on suitable stock, forms the best weeping lawn tree popular in America known as "teas" weeping mulberry. The variety *Venulosa* with attractive lobed leaves is said to be one of the best ornamental mulberries (Singhal *et al.*, 2000)

SILKWORMS AS FOOD

In Hong-kong, China, Korea and Japan, the healthy silkworm larvae are sterilized, vaccum dried and sold as commercial food. In powder form, it is used as common source of animal protein and sauce preparation especially for cardiac and diabetic patients due to its low cholesterol content (Singhal *et al.*, 2000).

Silkworm pupae is a nutritious food for human diet as it contains a balanced amount of moisture, chitin, water soluble proteins, carbohydrates, amino acids and Vitamin C, besides crude protein as a major constituents (Majumder, 1992; Majumder *et al.*, 1994). In addition, it contains fairly large amount of nutritionally important minerals like Na, K, Ca and P, Vitamins like B₂, nicotinic acid, folic acid and vitamin B₁ and essential as well as non-essential amino acids (Bose and Majumder, 1990; Bose *et al.*, 1989).

Yokoyama (1962) opined that nutritive value of silkworm pupae is even superior than that of fish meal and not inferior to beef. In Assam eri pupae are fried in oil, spices are added and eaten as delicious dish. The ancient Greek and Romans used the pupae powder in the preparation of cakes and bread. In China, children prefer pupae as food to chocolate. Native American Indians used the dry pupae in flour and chicklets (Bose, 1992) and Vietnamese eat silkworm larvae as it is (Singhal *et al.*, 2000).

Medicinal wine, popularly called as "moth wine" has been prepared by Shaanxi Sericultural Technology Station, China to treat impotence, abnormal menstruation and menopausal symptoms (Mandel, 1991; Rajiv and Kumar, 1996).

Pelade, the inner layer of silkworm cocoon shell is valuable ingredient of human food in China and Japan. One Kg of pelade is obtained from 10 Kg cocoon after reeling. Commercially known as "Shinki fibroin" in Japan, it is rich in bi- and tripeptides and easily digested and assimilated. It has the property to reduce the cholesterol and blood sugar and provides additional energy (Ramakanth and Anatharaman, 1997). 1-5% of "Shinki fibroin" can be added to food material and generally 5 g per day is consumed (2g/cup) with milk or coffee (Singhal *et al.*, 2000).

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH SILVICULTURE/SPORTS/ PAPER INDUSTRIES

Growing teak trees along with mulberry has been found to be a suitable combination of agroforestry model which can be adopted by farmers in India for enabling them to earn more from same unit of land without many investments. Under UNDP assisted extension programme, five villages each in Karnataka and Andhra Pradesh were adopted by the Institute of Wood Science and Technology, Bangalore for free distribution of teak saplings. The progressive sericulture farmers came forward to grow teak trees in their mulberry gardens. Sericulturists who showed interest in teak growing on an average formed a major group comprising of 40% (5-80%) and 12% (5-18%) in the total farmer community in Karnataka and Andhra Pradesh respectively. Sericulturists planted saplings either in between the rows of mulberry plants or on the boundary lines. The programme started in 1992 and teak trees have been found to grow there without additional expenditure or adverse effect on the growth of the mulberry plants. Teak trees survive in the dry agroclimatic conditions but grow best in the moist, warm and tropical climate in sandy to clayey loam soils with pH 6.5-7.5 by producing large deep root system. It thrives well in areas with 1000-1500 mm rainfall and demands profuse light. Hence, moricultural conditions are more or less suitable for growing teak along with mulberry. Teak does not create much shade because its side branches are usually trimmed off during early years of growth for formation of a clean bole. There is no need of individual irrigation for teak since it efficiently absorbs water leaked out of the surroundings, however, watering of teak seedlings are required during the early years for good growth. When teak trees are planted on boundaries, ploughing and other operations of soil for mulberry can be undertaken without any inconvenience and no difficulty is faced in harvesting of mulberry leaves also. The pests of teak i. e., *Hyblaea puera* and *Haplia machaeralis* do not attack mulberry and their control through chemical spraying may be resorted when there is no rearing or leaf harvest or leaves may be used after recommended safety period (Ramadevi and Khali, 1996). Besides being economically very important as a timber tree, teak also serves as secondary food plant of tropical tasar silkworms. The mulberry chips (excess stem, barks and roots) may be converted into fibre boards through conditioning, deflaking, drying, chopping and pulping, shifting, glueing and mixing, mat forming, pressing, curing and polishing (Majumder, 1997).

Likewise, besides serving as host plants of various silkworms many plants serve as highly valued economically very important timber trees also. Such plants may be left abandoned as and when required to grow undisturbed without utilising them for silkworm rearing for yielding timber only. Only their side branches should be trimmed to provide a clear bole. However, such plants should necessarily be located on the boundaries only so that they may not create much shade for other silkworm food plants. The wood of white mulberry (*Morus alba*) is used for house building, agricultural implements, sport goods and furniture etc. It is considered as medium grade fuel wood and their shoots can be used in paper industry when grown as bush and contain tannins for tanning and colouring purposes (Singhvi and Sinha, 1991).

Mulberry wood is used in the manufacture of sport goods and fancy articles due to blend of strength, flexibility and elasticity. Being highly shock resistant and not liable to split, it is preferred in manufacture of sports article like hockey sticks, cricket bats and stumps and tennis rackets. Jalandhar (Punjab) and Meerut (U.P.), in India have approximately 80 small scale industries engaged in production of sports goods from mulberry wood. The wood of mulberry is easy to saw and peels well in turnery and hence, used in manufacture of bobbins, tool handles and toys. The furniture made up of mulberry wood has very good finishing (Singhal *et al.*, 2000).

Chinnaswamy and Hariprasad (1998) found that the fuel value of mulberry is much superior over most of the agriculture residues. Hence, mulberry can solve the energy crisis of rural areas where mulberry can easily be grown but sericulture cannot be practised.

In China and Europe, the bark is stripped from waste and pruned branches are used in paper industries. Young shoots, which contain high cellulose, are also used for manufacturing paper (Dandin and Ramesh, 1987).

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH PISCICULTURE

In many countries, fat free pupae are fed to carps and other fishes for better yields. The people of Pearl River delta region in China have developed the "mulberry dike-fish pond complex" an ecosystem, which makes full use of available land and water resources. The peasants of Pearl River delta fulfil the food requirements of fish raised in a mu of fishpond by the amount of silkworm excreta and crysalises produced by a mu (1 ha = 15.15 mu) of mulberry trees. Thus, the ratio of mulberry to fish is 1:1. Hence, "mulberry dike-fish pond" is an inter-related ecosystem, which promotes development of different branches of agriculture by utilising full production potential of human beings and their environment. In this system mulberry is fed to the silkworms, which serve as primary consumers and their excreta and crysalises are inturn fed to the fishes, which serve as secondary consumers. The fish excreta and algae are decomposed by aquatic organisms, which serve as reduction agents and break down the organic matter in the pond to produce nitrogen, phosphorus and potassium. This organic pond mud is returned to the mulberry as fertilizer. Mulberry trees require ample sunlight and fertile soil otherwise quantitative as well as qualitative production of mulberry is ceased. The temperature must be above 10° C and below 40° C otherwise growth of mulberry is affected. The growth of silkworms also ceases when the temperature is below 15° C and above 32° C and humidity is less than 70 or above 85 percent. For fish cultivation the temperature of water should be between 5° C and 35° C while 5.0 mg per litre of oxygen is ideal for their survival. When oxygen content reaches 1 mg/litre the fishes come up to the surface and when it is less than 0.2 mg/litre or temperature is below 3° C they die. Thus mulberry trees, silkworms and fishes have different environmental needs yet they are easily manipulated with due care under "mulberry dike fish pond ecosystem".

It is estimated that 20 kg of grass can be transformed into 0.5 kg of grass carp plus 0.25 kg of big head carp or silvercarp. Mulberry and sugarcane leaves, elephant grass, peanut and corn form staple food for fishes. Silkworm excreta contain 2.2-3.5% nitrogen, 2.0-2.5% phosphorus and 1.5-2.0% potassium, which is higher than those found in excreta of pig, sheep or cattle. It is estimated that 100 kg mulberry leaves will yield 60 kg of silkworm excreta which inturn can generate 8 kg of fishes. These fishes can serve as important source of additional income and protein for sericulturists. In addition, the pond can supply fertile mud two-three times a year. Chinese peasants have estimated that 100,000 kg. of pond mud is equivalent to 50 kg. of chemical fertilizers since it contains 5% organic matter needed by plants. Pond mud also acts as weed killer, retards water evaporation and maintains soil fertility for a longer period (Bari, 1990).

Under ISDP farm of Central Silk Board, Dhubulia, West Bengal a location that remains water logged for more than 9 months in a year eight raised beds were prepared to cover 15442150 cm² or nearly 0.38 acres of totally unusable submerged wasteland. The eight raised beds were of 2135 cm × 427 cm (× 10 cm depth). The platforms were made on raised beds in June-July 1989 under 61 cm × 61 cm spacing with saplings of S1 variety. The mulberry plants established completely by the end of Dec. 1989 when they were pruned 22.5 cm above the ground level. The raised plant beds were weeded but no fertiliser was applied. Only canal residue, which contained green algae, plant, and animal residue was shelved onto the platform during January, 1990 when the canals mostly dried. During the third week of June when monsoon appeared in full swing, plants were pruned. On an average each bed produced 158 kgs. of leaf or nearly 17,354 kgs of leaf/ha. Even considering the amount of land, which was wasted for preparation of canals, the total of 0.38 acres of plantation consisting of eight raised beds and nine canals produced 8,219 kg of leaf/ha. which may be termed a bumper production (Sarkar and Prasad, 1991). If the canals are also used for fish cultivation like the people of Pearl River delta region of China, the income of the peasant can be further enhanced from such regions of India,

which have been completely left fallow due to their low lying nature or suffering from frequent or periodical floods.

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH DAIRY AND ANIMAL HUSBANDRY

White mulberry has been considered as a very important fodder tree (Dwivedi, 1988). A study undertaken to know the extent of participation of rural youth in different activities of dairy and sericulture and their socio economic characteristic revealed that most of the farm youth participate in dairy activities by assisting the family members and only 10-15% have taken up dairying themselves exclusively. On the contrary in sericulture, majority of the participation of youths (75%) in farm is through self doing rather than assisting their family members (Lakshmi Raju and Nataraju, 1998). Animals which can feed on silkworm litter are cow, sheep, pigs, buffaloes and poultry (Majumder, 1997).

It is estimated that one acre of mulberry garden can produce at least 10-12000 kg. of mulberry leaf/year from which 500-600 kg. of cocoons are produced and about 20% (350-400 kg/acre/crop or 2000-2400 kg./acre/year) of leaf and/or twigs considered as bed refusal (uneaten leaves and tender stumps) is sufficient and suitable as fodder for three cows. Apart from this, approximately 5% of the mulberry either soiled or unfit due to over maturity can also be used as fodder to the cattle. Rearing of three cattles along with rearing of silkworms will inturn meet the FYM requirement of one acre of mulberry garden and pupae may be used for extraction of oil/feed for poultry etc. (Radhakrishna *et al.*, 2000).

The studies carried out at National Dairy Research Institute, Bangalore revealed that mulberry leaves consist of highest protein and ether extracts and lowest crude fibre and ash contents as compared to other alternative feeds for cattles i. e., Maize, Jowar, Napier grass, Rhodes grass etc. Although mulberry leaf stalk/stump forms the low cost/no cost alternative fodder for cattle, yet bed refusals contaminated with bed disinfectants should be avoided. Only bed refusal of the succeeding days where the bed disinfectants are not used can be effectively used. The mulberry leaf/twigs are nowhere inferior in providing the body growth and production/energy requirements to cattles and dairy animals which have good appetite and eat mulberry leaf due to good palatability.

Research findings have shown that feeding a cow (weighing 300-400 kg.) with 5 kg. of mulberry bed refusal/day during lactation period increases the milk yields by 10%. Yet according to NDRI, Bangalore excessive feeding of mulberry leaf causes misconceiving/mis-carriage and repetitive breeding further leads to extended period of lactation with reduced milk production. Hence, feeding of mulberry leaves should be avoided during the first half of the pregnancy period and generally only 20-25% of the total feed requirement of cattles should be replaced by mulberry waste as a fodder. In rural areas of Karnataka especially in Kolar and Bangalore generally a pair of cow is reared with land holding of an acre of mulberry and "Milk & Silk" goes hand in hand and are the major squares of income in this area. However, according to Radhakrishna *et al.* (2000), the usage of bed refusal directly as a cattle feed may be restrained in the absence of proper awareness in silkworm disease management as bed refusal will be carrying maximum pathogen load in the event of out break of diseases which further spreads the diseases and contaminates the premises.

In branch feeding/shoot feeding method bed cleaning is totally avoided during fourth and fifth instars hence bed refusal is not available for cattle. However, farmers are using bed refusal of last three days (upper portion) as fodder for cattle, which amounts to 150-170 kg. in row system and 225-250 kg. in pit system. Bed refusal of last three days is dried by some farmers and used as fodder for goat/sheep. Substances extracted from mulberry shoots are effective in improving hair growth in animals like rabbits and sheeps. Rabbits have great liking for mulberry leaves. Body weight and growth of fur are said to be better when they are fed on mulberry leaves. The maintained sheep feed well on the leaves and increased milk yield. By the end of rearing season, if mulberry leaves are still

left in the garden they can be utilised as cattle feed efficiently (Majumder, 1997). When fat extracted from pupae (30% of dry weight) is mixed with poultry feed, improve their egg laying capacity and colour of the egg yolk is affected. When litter is increased to 20% in poultry feed, the xanthophyll content of yolk increased to 0.017 mg/egg (Majumder, 1997).

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH PHARMACEUTICAL INDUSTRIES

The food plants and the silkworms, which provided much for our silken dress, have lot of scope to identify, screen and evolve various medicines for our ailments. Various kinds of crude extracts from flowers, fruits, seeds, leaves, barks and roots of many mulberry and non-mulberry silkworm food plants have tremendous medicinal value in pharmaceutical industries and constitute major portion of the traditional pre-scientific as well as modern pharmacopoeia. Indian sericigenous medicinal flora is one of the richest and cosmopolitan flora with high therapeutic values/potentialities as described in detail by Srivastav and Thangavelu (2005).

Mulberry has lot of pharmaceutical values (Chinnaswamy *et al.*, 1993). Root extracts of *M. nigra*, which grows profusely in Jammu and Kashmir and Darjeeling has the innate power to suppress/raise the blood sugar if taken with meal. Moranoline (after *Morus*), more widely known as Deoxynojirimycin (DNJ) is a sugar analogue. The scientists have found that the glycoprotein 120 found at the very surface of the Human Immunodeficiency Virus (HIV) carrying an unusually large number of sugar side chains becomes inert and loses its ability to invade new cells in the presence of the alkaloid DNJ. It was also found that DNJ can also control intestinal alphasglucosidases. The drug and its various forms when tested against diabetes led to identification of a new drug, homonojirimycin which can control diabetes in an effective manner (Ray, 1990). Mulberry leaves also have anti-oxidation property and their regular use as tea may result into anti-aging. Besides, mulberry leaves are very effective in controlling high blood pressure, lowering cholesterol level, anti-cancer effect, heavy metal absorption in the drink, relief of arterio-sclerosis and prevention of hyperlipemia. Young mulberry leaves collected in spring season are more effective. Washed, dried and powdered mulberry leaves are consumed as a drink in cold water. Boiling of leaves is not advisable (Sharma and Sinha, 2000). In Japan, tea prepared from mulberry leaves is consumed as traditional healthy diet (Nomura 1988). Tsushida *et al.* (1987) and Machii (1990) measured gamma-amino butyric acid (GABA) in tea and mulberry leaves and developed "gaboron tea" using N₂ gas. This tea has property to control high blood pressure (Omori *et al.*, 1987). Mulberry leaf derived tea "Kuwacha-R" has also been commercialised by Honshina Co. Ltd., Saitama, Japan. Shimizu *et al.* (1992) reported that DOPA content, which occurs in very low concentration in mulberry leaves might not have anti-feedant effects to insects. As caffeic acid is very active for anti-bacterial activity (Iizuka *et al.*, 1976), Shimizu *et al.* (1982) opined that presence of L-DOPA in mulberry leaves may act as precursor to caffeic acid in mammals. Since, biogenic amines and their precursors occur in trace amounts "Kuwacha tea" from mulberry leaves can be taken regularly without any pharmacological or poisonous effects, yet, its overdose should be avoided due to the presence of gamma- GABA (Singhal *et al.*, 2000). The fruit juice from mulberry is used for curing sore throat, fever, dyspepsia and melancholia while the alcoholic extract from roots is effective in lowering blood pressure. A chemical called solanasol present in mulberry leaves and silkworm faeces has pharmaceutical significance. Chlorophyll extracted from the silkworm litter by using a suitable solvent and product is used in medicine in China and Japan (Majumdar, 1997). Singhal *et al.* (2000) have reviewed importance of mulberry in pharmaceutical industries.

Chinese scientists have found that anti-bacterial peptides present in mulberry silkworms work against diseases in human beings (Iyengar, 1998). Hongulu *et al.* (1987) has found that anti-bacterial peptides from *Bombax mori* have killing actions against K562, *Myelogenous leukemia* cells. Zheijiang Academy of Traditional Chinese Medicine has developed a medicine "ganxuebao" from silkworm excreta which has an efficiency rate of 95.6% for treatment of cancer patients (Mandel, 1991).

Japanese scientists from Sericulture Experiment Station, Miyagi Prefecture and Iwate University have prepared anti-fungal fraction from haemolymph of the silkworm, which inhibits the mycelial growth of *Pyricularia oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *F.cucurnerinum*, *Glomerella cingulata* and *Alternaria porii* (Iyengar, 2000).

The use of chitin preparations for the post-operative treatment of the internasal operations i. e. conchotomy, deviatomy, polypectomy etc., has showed that it is easier to use and it also hastens healing of wounds (Sagar *et al.*, 1991). Chitosan derived from chitin shows potent anti-microbial activity against various bacteria and fungi (Machida, 1992). It performs functions of immuno adjuvant or an anti viral agent and also stimulates lymphokine and works as anti viral and anti-tumour agent. As an anti sordes agent it prevents carcinogenic bacteria from teeth (Katti *et al.*, 1996). Due to low toxicity, the regenerated biocompatible chitosan membrane checks bleeding in major surgeries and has an excellent wound curing effects (Sagar *et al.*, 1991, Katti *et al.*, 1996). Both chitin and chitosan have been used for wound dressing, contact lenses and enhancement of dissolution properties of poorly soluble drugs such as griseofulvin, phenytoin, phenobarbital, predni-solone and flufenamic acid indomethacin. Hence, chitin and chitosans derived from pupae have very wide applications in pharmaceutical industries.

Silk is used to make sutures and can be added to the medical textiles as fibres, tendons, artificial ligament, blood vessels and skin grafts due to its excellent mechanical properties and strength. It can also be used in contact lenses or drug rehabilitation system involving tissue regeneration or even burn victims (Singhal *et al.*, 2000).

Some organic compounds like paste chlorophyll, carotene, phytol and tricontanol may be extracted through industrial processing. The paste chlorophyll is utilised in pharmaceutical industry for treatment of gastric disease like ulcer, liver hepatitis and some blood diseases. Copper-chlorophyll sodium can be used for the treatment of stomach diseases, hepatitis, acute pancreatitis and chronic nephritis. In U.S.A., there are more than 30 kinds of medicines, which contain Copper-chlorophyll-sodium. Paste chlorophyll has been extracted from faeces of bivoltine KA races of silkworm in India (Revanasiddaiah and Yashoda Bai, 1999). The carotene is used for manufacturing medicines for treatment of alimentary canal and respiratory organ diseases. Phytol is the medical raw material for Vitamin E and K while tricontanol is extensively used as a wonderful plant growth regulator (Singhal *et al.*, 2000).

Glucose lowering effect of powdery silkworm was discovered at Dept. of Sericulture and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, South Korea. Consequently, silkworm rearing increased there from 31,627 boxes in 1995 to 54000 during 1997 and 1998 as powdery silkworm played a large role as **function food** favoured by many diabetics. As sericin, the non-digestible protein is produced in silk gland just after 3rd day of the 5th instar, the silkworm is dried after this stage to get silkworm powder preferably by cold and dry technique rather than mature heat and dry technique. Not only this, the fibroin silk protein is in great demand for its use as artificial skin in plastic surgery. The fibrous scleroprotein is used in making surgical thread which is easily digested inside the skin (Sharma and Sinha, 2000).

The scientists of Natural Product Research Institute, Seoul National University and National Sericulture and Entomology Research Institute, South Korea developed the methodology to grow **cordyceps**, the rare miraculous herb on the body of silkworms. It occurs naturally in the highlands of China, Tibet and Nepal at an altitude above 10000 feet AMSL. This smaller than finger size fungi is priced more than its weight in gold as it exerts medicinal effects such as fatigue recovery, anti aging and anti cancer. Also, the amino acids obtained by biochemical resolution terminate hang over and activates liver function. The **cordyceps** production in South Korea reached 6 MT in 1997 and increased to 30 MT in 1999 and farmers are earning 5 times more for producing silkworm powder and 6.5 times more for producing **cordyceps** as compared to traditional cocoon production (Sharma and Sinha, 2000). The alternate host plant *Lactuca sativa* is given in bronchitis and asthma. Its stem and root are used as poultice in burns and painful ulcers (Sinha, 1996).

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH OIL INDUSTRIES

(a) Oil from silkworm pupae:

During the biological development, pupae synthesize oil, which can be extracted from dried pupae powder by two methods i. e., solvent extraction method and pressure application methods described by Bose and Majumder (1990). Hot extraction method gives more percentage of oil than cold extraction. The oil can be refined by steam distillation or by filtering through activated charcoal. The iodine number and saponification number of *Bombyx mori* pupae oil are 110 and 210 respectively, which are comparable to sunflower oil. The saponification value, acid value and ester values of *Antheraea assamensis* pupae oil are 190.2, 131.2 and 59.0 respectively. Italy is the second largest producer of pupae oil followed by Japan. Linseed oil (75%) mixed with pupae oil (25%) can be used for preparation of paints and varnishes. Sterol isolated from pupae oil is a very good hair tonic and can be used for manufacture of soap and candles (Bose and Majumder, 1990). Pupa oil is also used for manufacturing of a compound "Gunmaile" which is used in liver and blood diseases (Sugun and Kumar, 1996). Production of oyster mushroom *Pleurotus sajraju* raised under the strata of eri silkworm waste gives higher net returns as compared to paddy straw strata (Baruah *et al.*, 1999).

Lecithin is used in various food and pharmaceutical products. It is also used as an anti oxidant for vegetable oils and fish liver oil due to its high solubility in fats and oils with properties of edibility and absence of deleterious effects on products (Ghatak and Krishnamurthy, 1995; Calkin, 1947). More than 200 tonnes of Lecithin is imported to India annually. Hence, large quantities of Lecithin found in pupal waste can be exploited as a natural indigenous resource (Majumder *et al.*, 1996).

(b) Oil from host plants:

Seeds of *Morus alba* yield 25-35% edible oil (Jain *et al.*, 1990). Besides, seeds of some non-mulberry food plants also yield oil and fatty acids and can serve raw materials for oil industries (Srivastav and Thangavelu, 2005).

INTEGRATION OF SERICULTURE WITH TANNING AND LEATHER INDUSTRIES

Artificial leather can be made by processing bark of mulberry (Majumdar, 1997). The precipitate of the hydrolysed silk protein when dried and powdered could also be used as a coating over the foam to give a good touch of silk leather (Sharma and Sinha, 2000).

Thus blending of sericulture with agriculture, horticulture, silviculture, dairy and animal husbandry, pisciculture, pharmaceutical, cosmetic, timber, tannin, leather, food and other industries will not only make India a prosperous and leading country in sericulture but shall also alleviate poverty from the country even from grass root levels through efficient management and proper distribution of profits in post GATT era if our R & D understands the need of the hour and identifies and develops technologies which can make full use of mulberry, non-mulberry food plants and silkworm refuse as a valuable by-product in bio-resource life-science industries.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1995). Package and practices of vegetable crops. U.A.S., Dharwad, pp 276.
 BARI, M.A. (1990). Self-supporting mulberry dike - fish pond eco-system. Indian Silk, 28 (10): 22-23.
 BARUAH, A.M., REDDY, D.N.R., AND MALLESH, B.C. (1999). Potentiality of eri silkworm waste on oyster mushroom culture. Proc. Natl. Sem. On Trop. Seri., 28-30 Dec., pp 57.
 BONGALE, U.D. (1990). Guava - A new associate of mulberry in the non-traditional areas of Karnataka. Indian Silk, 28 (10): 20-21,23.

- BOSE, A.N. (1992). Protein from insect. Anand Bazar Patrika, Calcutta Publication, 21st June, pp 16.
- BOSE, P.C. AND MAJUMDER, S.K. (1990). Biochemical composition of pupae waste and its utilization. Indian Silk, 29: 45-46.
- BOSE, P.C., MAJUMDER, S.K., AND SENGUPTA, K. (1989). Role of silkworm *Bombyx mori* L. nutrition and their occurrence in haemolymph, silk gland and silk cocoons-a review. Ind. Jour. Seri. 28: 17-31.
- CALKIN, V.P. (1947). J. Amer. Chem. Soc. 69: 384. In: Lecithin and its importance. J. Sci. Ind. Res., 1995, 14A:290.
- CHINNASWAMY, K.P., DORESWAMY, C., DEVAIAH, M.C. AND VENKATESH, M. (1993). Pharmaceutical value of mulberry. Ind. Silk, 31 (11) : 47-48.
- CHINNASWAMY, K.P. AND HARIPRASAD, K.B. (1998). Utilization of mulberry crop residue as fuel wood. Indian Silk, 37: 17-18.
- DANDIN, S.B. AND RAMESH, S.R. (1987). A kulpa vruksha called mulberry. Ind. Silk, 26: 49-53.
- DWIVEDI, N.K. (1988). Importance of white mulberry as a fodder tree. Indian Silk, 27 (6): 18-20.
- DHINGRA, R.K., ROY, A.K. AND BARDAIYAR, V.N. (2002) Coriander as a mixed crop in mulberry nursery. Indian Silk, 41(4): 11.
- GANGWAR, S.K. AND THANGAVELU, K. (1991). Earning before harvest of mulberry leaf by intercropping. Indian Silk, 29 (11): 39-41.
- GARGI, SHUKLA, P., KUMAR, D., KUMAR, R. AND PANDEY, R.K. (1997). Intercropping for profitable sericulture in Purvanchal. Indian Silk, 35 (11): 31-32.
- GHATAK AND KRISHNAMURTHI, (1995). Silk industry and seri.-2000. Indian Silk, 38 (9&10): 17-18.
- HONGULU, J., SHANGGUAN, Z. AND ZHUJIANG, D. (1997). Acta Sericologia Sinica, 22:4.
- IIZUKA, T., KOIKE, S. AND MIZUTRANI, J. (1976). Isolation and identification of caffeic acid and 3-hydroxyanthranilic acid from faeces of silkworm larvae reared on artificial diet. Jour. Seri. Sci. Japan, 45: 321-327.
- IYENGAR, M.N.S. (1998). Anti-bacterial peptides from silkworms to fight leukemia cells. Indian Silk, 37: 10.
- KANG SUN RUY, HEU SAM LEE AND IKSOO KIM (2002). Effects and mechanism of silkworm powder as a blood glucose lowering agent. Intl. J. Indust. Entomo., 4(2): 53-100.
- KATTI, M.R., KAUR, R. AND GOWRI, S. (1996). Pupa skin-A useful waste. Indian Silk, 35:5-8.
- KAUR, R., MIR, M.R., KHAN, M.A. AND NAZIR, S. (2002). Intercropping of mulberry with Saffron. Indian Silk, 41 (2): 5-6.
- KOUL, GUPTA, A., SINGH, D. AND GUPTA, S.P. (1996). Intercropping of vegetables in mulberry. Jour. of Seri., 4 (20): 48-51.
- LAKSHMI RAJU, D. AND NATARAJU, M.S. (1998). Silk and milk: Participation of farm youths. Indian Silk, 36 (12): 15-17
- MACHIDA, Y. (1992). Application of chitin and chitosan to drugs. Pharm. Tech. Jap., 8: 15-20.
- MACHII, H. (1990). On gamma-aminobutyric acid contained in mulberry leaves. J. Seri. Sci. Jap., 59: 381-382.
- MAJUMDER, S.K. (1992). Industrial entomology- Integrated production and utilization of by-products through biotechnology of silkworms. Natl. Conf. on Mulb. Seri. Res., C.S.R. & T.I. Mysore.
- MAJUMDER, S.K., DUTTA, R.N. AND KAR, R. (1994). The silkworm chrysalis may be a food source for human nutrition. Sericologia, 34: 739-742.
- MAJUMDER, S.K., DUTTA, R.N., KAR, R. AND PAVANKUMAR, T. (1996). Pupa waste, an alternative resource for isolation of lecithin. Sericologia, 36: 555-557.
- MAJUMDER, S.K. (1997). Scope for new commercial products from sericulture. Indian Silk, 35 (12): 13-18.
- MANDEL, P.K. (1991). Sericulture waste utilization in China. Indian Silk, 30: 32.
- MANE, J., VAGE, M., KULKARNI, S.V. AND PATIL, G.M. (2000). An yield analysis of vegetable intercropping in mulberry. Advances in Plant Sciences Research, XII : 54-56.

- NOMURA, T. (1988). Phenolic compounds of the mulberry tree and related plants. In: Progress in the chemistry of organic natural products. Eds. W., Herg, H., Grisebach, G.W., Kirby and Ch. Tamm. Springer-Verlag, New York, 53: 88-201.
- OMORI, M., YANO, T., OKAMOTO, J., TSUSHIDA, T., MURAI, T. AND HIGUCHI, M. (1987). Effect of anaerobically treated tea (Gabaron tea) on blood pressure of spontaneously hypersensitive rats. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 61: 1449-1451.
- RADHAKRISHNA, P.G., SEKHARAPPA, B.M. AND MARIBASHETTY, V.G. (2000). Silk and Milk: An economic package for rural upliftment. *Indian Silk* 39 (5): 11-12,18.
- RAJIV, S. AND KUMAR, V. (1996). Sericulture by-products of China. *Indian Silk*, 35: 39.
- RAMADEVI, O.K. AND KHALI, D.P. (1996). Blending of silviculture with moriculture. *Indian Silk*, 34 (12): 13-15.
- RAMAKANTH AND ANANTHARAMAN, K.V. (1997). Cocoon pelade for better health. *Indian Silk*, Dec.-Jan: 35.
- REVANASIDDIAH, H.M. AND YASHODA BAI, S. (1999). Extraction of paste chlorophyll from Faeces of different larvae of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. *Proc. Natl. Sem. On Trop. Seri.*, 28 - 30 Dec, p 56
- SAGAR, M. HAMLYN, P. AND WALES, D. (1991). Manufacture of wound dressings from micro-fungal fibres. *Eur. Pat. Appl.*, 460: 774.
- SARKAR, A. AND PRASAD, S. (1991). Cultivation of mulberry in water logged areas. *Indian Silk*, 29 (11): 9-12.
- SHARMA, K.R. AND SINHA, R.K. (2000) Korean sericulture-Adding new dimensions. *Indian Silk*, 39 (7): 24-26.
- SHIMZU, Y., YAZWA, M. AND TAKEDA, N. (1992). Aromatic amino acids in the leaves of *Morus alba* and their possible medicinal value. *Sericologia*, 32: 633-636.
- SHUKLA, P., MISHRA, R.K. AND CHOWDHURY, P.C. (1989). Intercropping: A new vista in mulberry cultivation. *Indian Silk*, 31:39-41.
- SINGH, B.D., SINGH, P. K. AND KANT, R. (2003). Lentil and Moong-intercropping with mulberry. *Indian Silk*, 41(11): 10-12.
- SINGHAL, B.K., DHAR, A., SHARMA, A., QADRI, S.M.H. AND AHSAN, M.M. (2001). Sericultural by-products for various valuable commercial products as emerging Bioscience industry. *Sericologia*, 41 (3) 369-391.
- SINGHVI, N.R. AND SINHA, A.K. (1991). Mulberry : The Kalpavriksha of the twenty first century. *Indian Silk*, 30 (2): 24-26.
- SINHA, A., SARKAR, A., AND DAS, B.C. (1987). Technology for intercropping in mulberry. *Indian Farming*, 36 (11): 11-12.
- SINHA, S.C. (1996). Medicinal plants of Manipur. Mass and Sinha, Imphal.
- SRIVATSAV, P.K. AND THANGAVELU, K. (2005). Sericulture and Seri - Bio diversity, Associated Publishing Company, New Delhi
- SUGUN, R. AND KUMAR, V. (1996). *Indian Silk*, 34: 19.
- TIKADER, A. (1991). Turmeric as an intercrop with mulberry. *Indian Silk*, 30 (5) : 29-30.
- TSUSHIDA, T., MURAI, T., OMORI, M. AND OKAMOTO, J. (1987). Production of a new type tea containing a high level of gamma-aminobutyric acid. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 61: 817-822.
- YOKOYAMA, T. (1962). Synthesized science of sericulture. Central Silk Board, Bangalore, India, pp 242-253.

ASSOCIATION DE LA SERICICULTURE AVEC D'AUTRES INDUSTRIES EN INDE

P. K. SRIVASTAV, S. CHAKRABARTI & M. A. KHAN*

Regional Sericultural Research Station, Sahaspur, Dehradun - 248 197, Inde.

Les besoins illimités en nourriture, en vêtements, en abris et en médicaments en raison de l'explosion de la population ont forcé les êtres humains à trouver des façons et des moyens pour augmenter les profits économiques à partir d'une unité de surface de terrain. La tendance actuelle en matière de production de soie est un déclin de la superficie de mûrier, à cause du manque d'eau, des tendances fluctuantes en matière de précipitations, de la non disponibilité en main d'oeuvre qualifiée, du coût élevé des intrants, et du coût comparativement faible des cocons sur le marché. Le mûrier est cultivé sous forme d'arbres sans irrigation, dans les états du nord-ouest de l'Himalaya. La période de gestation entre la transplantation des jeunes plants jusqu'à l'obtention d'arbres pleinement adultes est de 4 à 5 ans, pendant lesquels les fermiers et les fermes gouvernementales ne tirent pas beaucoup de revenus de la sériciculture. Quand les arbres deviennent capables de soutenir l'élevage, les fermiers ne gagnent pas beaucoup en raison des élevages bivoltins dans cette zone qui les laissent inoccupés pendant neuf mois puisque les élevages durent trois mois pour les récoltes du printemps et de l'automne. L'association de la sériciculture avec l'agriculture, l'horticulture, la pisciculture, la sylviculture et les industries laitières augmenterait donc non seulement le revenu des fermiers mais de plus elles se complèteraient et elles s'aideraient mutuellement d'une manière non nuisible pour l'environnement. De plus, il existe de grandes possibilités pour utiliser les produits dérivés et pour l'exploitation commerciale de nouveaux produits séricicoles dans les industries des cosmétiques, des meubles, du tannage du cuir, des produits pharmaceutiques, de l'alimentation, du savon et des autres industries, qui pourraient améliorer les revenus des fermiers de l'ordre de 5 à 6,5 fois, par comparaison à la production traditionnelle de cocons.

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE A L'AGRICULTURE ET A L'HORTICULTURE

Les multicultures et les intercultures sont les meilleurs moyens pour intégrer la sériciculture à l'agriculture et à l'horticulture. En fait, certains fermiers pratiquent déjà l'interculture avec le mûrier surtout pendant son enracinement. On pourrait utiliser avec succès la voûte basse des plants de mûrier pendant leur période d'établissement et l'espacement plus important entre les rangées pour faire des cultures de rapport commercial afin d'obtenir des revenus supplémentaires de la même surface de terrain, parce que l'établissement correct du mûrier de la plantation à la première récolte de feuilles pour la sériciculture prend soit 6 à 8 ou 3 à 5 mois ou plus, sous les tropiques, pour les muraies plantées respectivement avec des boutures ou des jeunes plants.

Dans les régions tropicales, le mûrier irrigué est cultivé soit en système de rangées avec des espacements compris entre 61 cm × 15,3 cm et 91,5 cm × 91,5 cm ou selon un système de trous avec un espacement compris entre 61 × 61 cm et 122 cm × 122 cm ou (244 cm + 61 cm) × 61 cm. Au contraire, le mûrier sans irrigation n'est cultivé que selon un système de trous, avec un espacement

* Central Sericultural Research & Training Institute, Pampore, Srinagar - 190 001, Inde.

plus important des plants de 183 × 183 cm, 244 cm × 244 cm, 244 cm × 274,5 cm et 305 cm × 305 cm. Dans le cas de la culture du tasar tropical, on adopte l'espacement de 122 × 122 cm, de 183 cm × 183 cm, de 244 × 244 cm, dans la culture du muga de 183 cm × 183 cm, de 274,5 cm × 274,5 cm, de 366 cm × 366 cm, dans la culture du tasar du chêne, de 122 cm × 122 cm, de 122 cm × 183 cm, de 183 cm × 183 cm et pour l'élevage eri de 91,5 cm × 91,5 cm, de 183 cm × 183 cm, de 274,5 cm × 274,5 cm, 366 cm × 366 cm.

Tous ces espacements sont en effet appropriés pour l'interculture pendant la phase initiale d'établissement. Cependant, dans le cas des plantes hôtes du mûrier, les espacements de 91,5 cm × 91,5 cm et de 122 cm × 122 cm ne permettent pas la pénétration de la lumière du soleil après l'établissement. Pour la culture alternée, tous les mûriers devraient donc être cultivés avec un espacement de plus de 183 cm × 183 cm. Un espacement de 244 cm × 244 cm ou 305 cm × 305 cm pour les plants de mûrier, sera plus adapté pour la culture alternée même après leur établissement, puisqu'on les taille quand ils font plus de 152,5 cm comme arbres. La taille basale du mûrier permet une lumière du soleil uniforme pour la culture alternée, tandis que la taille des plants non - mûrier à plus de 122 cm crée de l'ombre sur le terrain, si l'espacement est inférieur à 183 cm × 183 cm, ce qui n'est pas très adapté pour l'interculture à la fois chez les plants taillés et chez les plants non taillés.

Puisque la majorité des fermiers séricicoles ont de très petites propriétés et dépendent principalement de main d'oeuvre familiale et d'outils simples, ils n'ont pas la capacité de prendre des risques et ils n'ont pas assez de terrain pour diversifier leurs systèmes de culture. En cultivant d'autres plantes à durée courte avec le mûrier, les fermiers peuvent donc tirer des bénéfices supplémentaires des cultures alternées, en plus du rendement en feuilles de mûrier, ce qui leur assure un revenu plus élevé par unité de surface de terrain. D'après Koul et coll., (1996), on peut adopter l'interculture avec des légumes pendant l'hiver dans les plantations de mûrier sans dommages pour les mûriers et indirectement pour l'élevage du ver à soie. Sinha et coll., (1987) ont présenté une étude détaillée concernant une technologie pour l'interculture. Cependant, il faut ajouter une dose supplémentaire d'engrais et de fumier de ferme à l'interculture, en plus du taux d'application recommandé, pour les plants de mûrier (Anonyme, 1995).

a) Choix de l'interculture :

Il faut sélectionner les intercultures qui répondent aux caractéristiques de durée courte, de canopée basse, poussant à l'ombre et qui ont peu de besoins en apports pour la culture avec les plantes hôtes du mûrier et non-mûrier. Les intercultures qui présentent une compétition élevée avec les plantes séricigènes, avec un faite élevé, ont un effet sur leur croissance, tandis que les intercultures héliophytiques à canopée basse ne poussent pas sous l'ombre de la flore séricigène. Non seulement, la bonne interculture permet d'augmenter le profit net par unité de surface mais elle améliore aussi la fertilité du sol, protège contre les calamités naturelles et facilite la lutte contre les mauvaises herbes, les parasites et les maladies. Les cultures de légumineuses à durée courte comme l'urde (70 jours), le haricot soja (90 jours) et le pois chiche noir (90 jours) sont des intercultures qui conviennent aux plants de mûrier pendant leur établissement. L'interculture chez le mûrier semble être un système plus adapté, quand les propriétés dynamiques, comme la constance de rendement d'une année sur l'autre (la stabilité), la capacité à survivre dans des périodes de stress (résilience) et la capacité du système à fonctionner pendant une période indéfinie existent (durabilité) (Shukla et coll., 1989).

Mane et coll., (2000) ont constaté qu'on obtient le rendement foliaire le plus élevé avec une parcelle de mûrier associée seulement à des haricots verts ou du Palak tandis qu'on enregistre le rendement foliaire du mûrier le moins important avec l'interculture d'amarante. On enregistre le rendement le plus élevé avec des cultures intercalées avec de l'amarante, suivie par le Palak, le haricot vert, la menthe et le coriandre, tandis qu'on n'obtient pas de rendement quand on intercale l'oignon, le gombo et le haricot grappe avec le mûrier, ce qui pourrait être dû au fait que les durées de ces cultures sont comparativement plus longues. On peut donc procéder à l'interculture de palak dans la muraie sans aucun dommage pour le rendement foliaire du mûrier, ou l'élevage du ver à soie.

En raison de la prédominance d'une température élevée allant jusqu'à 47° C et d'une humidité aussi faible que 25 % pendant l'été dans la zone de Purvanchal de l'Uttar Pradesh, l'élevage du ver à soie (N × NB4D2 ou PM × NB4D2) devrait commencer du 29 mars au 2 avril, de sorte que l'élevage soit terminé le 25 avril, avant que la température et l'humidité deviennent hostiles à la croissance du ver à soie du mûrier. Dans ces circonstances, on a conseillé aux fermiers d'entreprendre une interculture d'urde [*Vigna mungo* (Lin.) Hepper] ou de moong [*Vigna radiata* (Lin.) Wilczek syn. *P. radiatus* Linn.] avec un espacement de 91,5 cm × 91,5 cm ou de 122 × 61 cm pendant la première moitié d'avril jusqu'à la première semaine de juillet, quand l'élevage d'été est en cours. Il n'y a pas de répercussion sur la germination et sur la croissance de l'urde et du moong puisque les feuilles de mûrier sont utilisées pour l'élevage des vers à soie. On recommande l'irrigation hebdomadaire pendant l'élevage et toutes les quinzaines après l'élevage, ce qui sauve aussi les plants de mûrier pendant l'été. Il n'est pas nécessaire de procéder au désherbage et aux autres opérations culturales puisque le moong et l'urde ne permettent pas la croissance des mauvaises herbes. On entreprend la taille du mûrier et la récolte de ces cultures intercalées pendant la première semaine de juillet, au début de la mousson. Après la récolte de la partie supérieure qui contient les cosses, on incorpore le reste de la plante dans le sol en le retournant, pour apporter de la matière organique à la plantation de mûrier. Par ailleurs, l'urde et le moong ajoutent aussi de l'azote, car ils le fixent dans le sol à partir de l'atmosphère. On peut récolter une totalité de 125 kg de moong ou d'urde à partir de ces cultures alternées. Donc, en plus du revenu obtenu par l'élevage du ver à soie en avril, la culture alternée apporte un revenu supplémentaire de 2000 Rs à partir d'un demi hectare de muraie, tout en augmentant la fertilité du sol et en améliorant la texture du sol (Gargi et coll., 1997).

Dans la région d'Uttaranchal, l'interculture de lentilles et de moong avec des espacements de (244cm + 61 cm) × 61 cm des buissons de mûrier donne des profits maximum de 33,815 Roupies, à partir du rapport des cocons récoltés en utilisant les feuilles de mûrier et du rapport des cultures alternées, ce qui permet un gain net de 22 958 Rs à partir d'un demi hectare de plantation de mûrier, pendant les saisons du printemps et de l'automne (Singh et coll., 2003). Une expérience réalisée en 2005 par le Département de Sériciculture, du Gouvernement de l'Uttaranchal dans la ferme séricicole gouvernementale d'Akkad (Pathari) à Haridwar, où on a accordé des plantations de mûrier aux fermiers, a extrêmement bien réussi. En plus de l'élevage du ver à soie pendant les saisons du printemps et de l'automne, les fermiers utilisent le reste de la période maigre pour la culture de légumes variés, en cultures alternées, dans la ferme séricicole. Cette ferme s'étend sur 9 hectares et on a planté les mûriers avec des espacements de 183 × 183 cm à 305 × 305 cm. Une surface de cinq ha est allouée à chaque fermier, qui cultive le radis, le navet, l'épinard, le chou, le fenugrec, la moutarde, l'ail, l'oignon, le curcuma, la coriandre et le bakla. Le radis et le navet sont cultivés sur les bords entre deux rangées de mûriers.

Dans le Tamil Nadu, les préférences des fermiers sont l'oignon, les pois chiches et la coriandre. L'oignon, la coriandre, le piment et le maïs sont cultivés sur les bords, en général entre deux rangées de mûrier formant une crête. La tomate et le brinjal sont cultivés au bord des crêtes pour leur apporter suffisamment d'espace pour qu'ils s'étendent et pour protéger leurs racines de l'excès d'eau qui ruisselle dans les sillons pendant l'irrigation. Au contraire, on cultive les légumes secs comme le haricot urde, le haricot soja, le pois chiche noir et le haricot *Macrotyloma uniflorum*, Fabaceae dans les sillons. Malgré des profits élevés, certaines cultures comme le piment (5 000 Rs. / demi-hectare) ne devraient pas être cultivées dans les fermes séricicoles, en raison de leurs effets néfastes pour les vers à soie. On sème la plupart des cultures intercalées après la mousson du sud-ouest (juin -juillet) et la mousson du nord-est (oct -nov.), quand les conditions météorologiques favorisent ces cultures dans le Tamil Nadu. L'oignon, la tomate, le brinjal, l'okra et le maïs apportaient un revenu supplémentaire de 3000 - 4000 Rs / demi hectare, tandis que les légumes secs apportaient un revenu moins important de 2500 / 2000 Rs. / demi hectare dans le Tamil Nadu avant 1990, cependant le revenu réel varie d'un fermier à l'autre, en raison de la variation de l'espacement des plants de mûrier,

de la densité des cultures alternées et aussi des techniques des fermiers (Gangwar et Thangavelu, 1991).

Les sols des collines de l'ouest du Bengale, principalement du limon sablonneux, ont des niveaux élevés en matière organique avec un humus et un pH compris entre 4,1 et 6,7. L'agriculture dans la zone se fait principalement sans irrigation ou seulement par une irrigation par les sources et les petits ruisseaux connus localement sous le nom de "Jhora" qui dépendent aussi de la pluie. Les conditions agro climatiques qui dominent sont adaptées au mûrier et au curcuma. Le curcuma pousse bien sous un climat chaud et humide, à une altitude plus élevée, dans du sol riche en terreau ou alluvial. Il ne supporte pas les conditions de sol détrempé, caillouteux, rocailleux ou très argileux, qui ne sont pas adaptées au développement de ses rhizomes. Cependant, il peut tolérer un pH compris entre 5 et 7,5. Les fermiers ont adopté le mûrier et le curcuma comme monocultures et n'obtiennent pas de bons rendements en raison de facteurs variés. Les fermiers récoltent les feuilles de mûrier trois fois en avril, juin et septembre pour l'élevage du ver à soie, tandis qu'on sème le curcuma en avril et on le récolte en novembre. La monoculture et la culture alternée de curcuma entre les rangées des plants de mûrier (espacement de 61 cm × 61cm) avec les mêmes doses d'engrais et d'application de fumier que pour la culture unique de mûrier montrent que, le rendement foliaire (30,68 kg / parcelle) baisse de 8,47 % chez le mûrier mais le rendement en rhizomes de curcuma (7,68 kg / parcelle) augmente de 10,98 % par opposition à leur utilisation seuls en monocultures (respectivement, 33,52 et 6,92 kg / parcelle). Quand on calcule le coût de la culture alternée avec le mûrier, on constate que les profits nets des cultures seules de mûrier et de curcuma sont respectivement de 30 710 Rs et de 14 400 Rs. Alors que la culture alternée combinée du curcuma avec le mûrier donne un profit net de 33 340 Rs. en 1990-91. Le profit net augmente donc de 8,56 %, à partir de la même parcelle de terrain, sans investissement supplémentaire. De plus, comme le curcuma a besoin de beaucoup de fumure, on pourrait introduire la culture combinée de légumineuses pour recouvrir le sol, améliorer les conditions physiques et la fertilité du sol grâce à la fixation de l'azote par les nodules des racines (Tikader, 1991).

b) Choix des cultures mélangées :

La culture du mûrier dans d'autres plantations de vivaces, en tant que culture alternée n'est pas encore une pratique courante, cependant dans la zone de Mandya, de Bangalore et de Tumkur dans le Karnataka, le cocotier est un associé populaire de la sériciculture. De plus, dans les zones de Dharwad (Karnataka) certains fermiers ont planté du mûrier dans des plantations de goyave tandis que d'autres cultivent les deux plantations ensemble pour les raisons suivantes :

1. La culture mélangée génère un revenu de subsistance à partir de la sériciculture pendant la période d'attente, jusqu'à ce que la principale culture se soit pleinement développée. Le goyavier, le sapotillier, le manguiier prennent 3-4 ans tandis que le cocotier prend 6 à 8 années pour produire après sa plantation.

2. La culture mélangée génère un revenu plus élevé à long terme, sur la même parcelle de terrain, à partir des produits horticoles et séricicoles.

3. La culture mélangée augmente l'efficacité d'utilisation de l'énergie solaire, des nutriments du sol et des autres apports agricoles en raison du profil à plusieurs niveaux de la culture. Tandis que les arbres fruitiers ont besoin proportionnellement d'une plus grande quantité de potasse, le mûrier a besoin de plus d'azote. Un besoin aussi différentiel dans les trois principaux nutriments (NPK) diminue, à un certain degré, la concurrence entre les espèces de plantes.

4. Le mélange des cultures apporte une couverture protectrice au sol exposé. L'exposition de la terre directement à la lumière du soleil, au vent, aux précipitations, etc, augmente la température du

sol, accélère la décomposition de la matière organique, diminue l'infiltration de l'eau de pluie, augmente le taux d'évaporation et diminue / empêche l'entrée d'air dans le sol.

Le mûrier, une plante vivace à racines profondes à la croissance végétative rapide, produit au bout de 6 à 8 mois après la plantation et avec un système de culture en buissons, il ne forme pas de cime qui se déploie. Après son enracinement, le sol n'est pas exposé et il n'est pas nécessaire de procéder à un labour répété. Parallèlement, il diminue aussi considérablement l'intensité de l'ombre en raison de la récolte répétée des feuilles tous les 2-3 mois. Il peut donc servir comme une culture mélangée des plus adaptées avec le goyavier, le sapotillier, le citrus, le citronnier, le grenadier et le papayer et d'autres plantations de fruits similaires dont la taille de la cime et les mesures sont modérées. Selon Bongale (1990) les aspects suivants permettent de procéder à la culture mélangée du mûrier dans une plantation de cultures arboricoles.

i. Il faut laisser une surface d'un rayon d'environ 152,5 cm non cultivée, autour de chaque arbre, et il faut planter le mûrier sur le reste de la surface.

ii. Il faut creuser un fossé d'environ 61 cm de profondeur autour de chaque arbre, pour empêcher les racines de mûrier d'entrer en concurrence avec celles des autres arbres fruitiers.

iii. Il faut planter le mûrier de préférence avec un espacement étroit en rangées entre les arbres fruitiers, de manière à restreindre la croissance des racines de mûrier et diminuer la concurrence entre les deux cultures.

iv. Les besoins nutritionnels du mûrier et des arbres fruitiers doivent être satisfaits séparément, d'après les recommandations respectives.

v. Procéder à la vaporisation des produits chimiques protégeant les plantes, en respectant une période de sécurité suffisante pour l'élevage du ver à soie.

vi. La plantation de mûriers doit être renouvelée tous les dix ans en déracinant les anciens mûriers et en plantant les nouveaux, pour empêcher une concurrence importante entre les deux cultures et pour faciliter la récolte optimale des fruits

Le domaine d'étude sur l'innovation d'un système agricole plus efficace de culture du mûrier avec des arbres fruitiers variés est très ouvert.

c) Plantes séricigènes comme nourriture / ornements :

Dans l'écosystème, on mange directement les fruits du mûrier comme fruits frais. Par ailleurs, ils sont aussi utilisés pour préparer des pickles, de la confiture, de la gelée, des glaces et du vin en raison de leurs valeurs nutritionnelles et médicinales élevées. La faune aviaire (corbeaux, petits oiseaux), les insectes (insectes pentatomides et fourmis) et les canins (chiens) consomment aussi directement les fruits du mûrier.

On extrait la chitine, un dérivé de la n-acetylglucosamine de la cuticule des vers à soie et de l'exosquelette des nymphes. On l'utilise comme additif pour augmenter le volume du pain, à base de farine de blé, d'environ 4,9 à 6 cm³ / g, puisqu'elle a une capacité de liaison de l'eau, plus importante que la micro cellulose.

Les excréments du ver à soie dépigmentés donnent environ 10 % de pectine, que l'on peut utiliser comme épaississant dans le sucre, la gelée, la confiture, le jus de fruit concentré et comme stabilisateur dans la glace. On peut l'utiliser pour faire baisser les triglycérides et le cholestérol dans le sang et elle présente une activité bactériostatique et de détoxification (Majumder, 1992).

Quand on greffe une variété de mûrier russe, aux branches tombantes, à une certaine hauteur sur une souche adaptée, elle forme l'un des meilleurs arbres pour pelouse, au feuillage tombant, populaire en Amérique, connu sous le nom de mûrier « teas ». On considère aussi que la variété *Venulosa*, aux feuilles lobées attirantes, est l'un des meilleurs mûriers d'ornement (Singhal et coll., 2000).

LE VER A SOIE COMME NOURRITURE

A Hong-Kong, en Chine, en Corée et au Japon, on stérilise les larves de vers à soie saines, on procède à une dessiccation sous vide et on les vend comme nourriture dans le commerce. Sous forme de poudre, on les utilise comme une source courante de protéines animales et de préparation pour les sauces surtout pour les patients cardiaques et diabétiques en raison de leur faible teneur en cholestérol (Singhal et coll., 2000).

La chrysalide de ver à soie est une nourriture nutritive pour les êtres humains parce qu'elle contient dans ses principaux constituants une quantité équilibrée d'humidité, de chitine, de protéines solubles, d'hydrates de carbone, d'acides aminés et de vitamine C, en plus des protéines brutes (Majumder, 1992 ; Majumder et coll., 1994). De plus, elle contient une quantité assez importante de minéraux importants sur le plan nutritionnel comme le Na, le K, le Ca et le P, de vitamines telles que la B2, l'acide nicotinique, l'acide folique et la vitamine B1 et d'acides aminés essentiels ainsi que non essentiels (Bose et Majumder, 1990 ; Bose et coll., 1989).

D'après Yokoyama (1962), la valeur nutritive de la chrysalide de ver à soie est même supérieure à celle d'un repas de poisson et n'est pas inférieure à celle du boeuf. Dans l'Assam, les chrysalides eri sont frites dans l'huile, on leur ajoute des épices et elles constituent un plat délicieux. Dans l'Antiquité, les Grecs et les Romains utilisaient la poudre de chrysalide dans les gâteaux et le pain. En Chine, les enfants préfèrent les chrysalides comme nourriture au chocolat. Les Indiens indigènes d'Amérique utilisaient les chrysalides sèches dans la farine et les chicklets (Bose, 1992) et les Vietnamiens mangent les larves de vers à soie telles quelles (Singhal et coll., 2000).

La *Shaanxi Sericultural Technology Station* en Chine, a mis au point un vin médicinal, appelé populairement « vin de papillon » pour traiter l'impuissance, les menstruations anormales et les symptômes de la ménopause (Mandel, 1991 ; Rajiv et Kumar, 1996).

La pélette, la couche interne de la coque soyeuse du ver à soie est un ingrédient de valeur dans la nourriture de l'homme en Chine et au Japon. On obtient un kg de pélette à partir de 10 kg de cocons après le dévidage. Connue commercialement sous le nom de « fibroïne Shinki » au Japon, elle est riche en bi et tri-peptides et facilement digérée et assimilée. Elle a la propriété de diminuer le cholestérol et le sucre dans le sang et apporte un supplément d'énergie (Ramakanth et Anatharaman, 1997). On peut ajouter 1 à 5 % de « fibroïne Shinki » aux aliments et, en général, on peut en consommer 5g par jour (2 g / tasse) avec du lait ou du café (Singhal et coll., 2000).

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE A LA SYLVICULTURE ET AUX INDUSTRIES DE / DES SPORTS ET DU PAPIER

On a constaté que la culture du tek avec le mûrier est une combinaison adaptée dans le cadre du modèle de l'agrosylviculture, que les fermiers peuvent adopter en Inde pour leur permettre de gagner plus, à partir de la même unité de terrain, sans beaucoup d'investissement. Dans le cadre d'un programme de vulgarisation assisté par le PNUD, cinq villages situés dans le Karnataka et l'Andhra Pradesh ont été adoptés par l'Institut de la Technologie et de la Science du Bois à Bangalore pour la distribution gratuite de jeunes plants de teks. Les fermiers séricicoles progressistes se sont proposés pour cultiver du tek dans leurs muraies. Les sériciculteurs ayant accordé de l'intérêt pour la culture du tek forment un groupe principal comprenant, en moyenne, respectivement 40 % (5 à 80 %) et 12% de la totalité de la communauté des fermiers dans le Karnataka et dans l'Andhra Pradesh. Les sériciculteurs plantent leurs jeunes plants, soit entre les rangées des plants de mûrier, ou sur les limites du terrain. Le programme a commencé en 1992 et on constate que les arbres de tek poussent sans dépense supplémentaire ou sans effet négatif sur la croissance des plants de mûrier. Les arbres tek survivent dans des conditions agroclimatiques de sécheresse mais poussent mieux dans un climat tropical, humide, chaud et dans des sols sablonneux à argileux avec un pH compris entre 6,5 et 7,5, en produisant un système racinaire important et profond. Il s'épanouit bien dans des zones avec 1000

à 1500 mm de précipitations et a besoin d'une lumière abondante. Les conditions de la moriculture sont donc plus ou moins adaptées à la culture du tek et du mûrier. Le tek ne crée pas beaucoup d'ombre, parce que ses branches latérales sont en général taillées pendant les premières années de sa croissance, pour la formation d'un tronc propre. Le tek n'a pas besoin d'irrigation individuelle, puisqu'il absorbe efficacement l'eau qui filtre des environs, cependant, il est nécessaire d'arroser les plantules de tek, pendant les premières années pour une bonne croissance. Quand on plante les arbres de tek sur les limites du terrain, on peut procéder aux opérations de labour du sol pour le mûrier ainsi qu'aux autres opérations, sans aucun problème, et la récolte des feuilles de mûrier ne pose aucune difficulté. Les parasites du tek, c'est-à-dire *Hyblaea puer* et *Haplia machaeralis*, n'attaquent pas le mûrier et on peut lutter contre eux en ayant recours à des vaporisations chimiques, quand il n'y a pas d'élevage ou de récoltes de feuilles, ou on peut utiliser les feuilles après la période de sûreté recommandée (Ramadevi et Khali, 1996). Tout en étant très important sur le plan économique pour l'industrie du bois, le tek sert aussi de plante hôte secondaire pour les vers à soie tassar tropicaux. Les copeaux de mûrier (tronc, écorce et racines en trop) peuvent être transformés en panneaux fibreux par la transformation, la formation de flocons, le séchage, la coupe, la réduction en pâte, l'agglomération, le collage et le mélange, la formation de nattes, la presse, le traitement et le polissage (Majumder, 1997).

De même, en plus de servir de plantes hôtes à des vers à soie variés, de nombreuses plantes servent aussi comme des arbres très importants, appréciés sur le plan économique et pour leur bois. On peut laisser ces plants à l'abandon quand on le veut et les laisser pousser sans les utiliser pour l'élevage du ver à soie mais seulement pour leur bois. Il faut juste tailler leurs branches latérales pour que leur tronc soit propre. Cependant, ces plants doivent être situés seulement en limite du terrain, pour qu'ils ne fassent pas trop d'ombre aux autres plantes hôtes du ver à soie. On utilise le bois du mûrier blanc (*Morus alba*) pour la construction de maisons, d'instruments agricoles, d'articles de sport et de meubles, etc... Il est considéré comme un bois combustible de qualité moyenne et on peut utiliser ses pousses, quand on les cultive sous forme de buissons, dans l'industrie du papier et elles contiennent des tannins à des fins de brunissement et de coloration (Singhvi et Sinha, 1991).

On utilise le bois du mûrier pour fabriquer des articles de sports et des articles fantaisie en raison de son mélange de résistance, de flexibilité et d'élasticité. Comme il est très résistant aux chocs et n'est pas susceptible de se fendre, on le préfère pour la fabrication d'articles de sport comme les cannes de hockey, les battes de base-ball et les poteaux et les raquettes de tennis. Jalandhar (Punjab) et Meerut (U. P.) en Inde sont propriétaires d'environ 80 industries de petite taille, impliquées dans la fabrication d'articles de sport à partir de bois de mûrier. Le bois de mûrier est facile à scier et se travaille facilement dans les ateliers de tournage et on l'utilise donc dans la fabrication de bobines, de manches d'outils et de jouets. Les meubles faits à partir de bois de mûrier ont une très bonne finition (Singhal et coll., 2000).

Chinnaswamy et Hariprasad (1998) ont observé que la valeur du mûrier en tant que combustible est bien supérieure par rapport à la plupart des résidus de l'agriculture. Le mûrier peut donc résoudre la crise de l'énergie dans les zones rurales, où on peut facilement cultiver le mûrier, mais où on ne peut pas pratiquer la sériciculture.

En Chine et en Europe, on détache l'écorce des branches inutilisées et taillées pour l'utiliser dans les industries du papier. On utilise les jeunes pousses, qui contiennent beaucoup de cellulose pour fabriquer du papier (Dandin et Ramesh, 1987).

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE A LA PISCICULTURE

Dans de nombreux pays, on nourrit les carpes et d'autres poissons avec des chrysalides sans matières grasses pour obtenir de meilleurs rendements. Les gens de la région du delta de la rivière Pearl en Chine ont mis au point un système « digue de mûrier – mare à poissons », un eco-système qui permet une utilisation complète des ressources disponibles en terre et en eau. Les paysans du delta

de la rivière Pearl répondent aux besoins en nourriture des poissons, élevés dans une mare à poissons d'un mu, par la quantité de déchets et des chrysalides de vers à soie produits par un mu (1 ha = 15,15 mu) de mûriers. Le ratio de mûriers par rapport aux poissons est donc de 1 : 1. L'écosystème « digue de mûrier – mare à poissons » permet donc une inter-relation, ce qui promeut différent secteurs de l'agriculture, en utilisant le potentiel complet de production des êtres humains et de leur environnement. Dans ce système, on alimente les vers à soie, qui servent de consommateurs primaires avec du mûrier et leurs excréments et les chrysalides sont, à leur tour, donnés en nourriture aux poissons, qui servent de consommateurs secondaires. Les excréments des poissons et les algues, sont décomposés par des organismes aquatiques, qui servent d'agents réducteurs et décomposent la matière organique de la mare pour produire de l'azote, du phosphore et du potassium. La boue de la mare organique retourne au mûrier en tant qu'engrais. Les mûriers ont besoin de beaucoup de lumière du soleil et de sol fertile, autrement cela stoppe la production quantitative et qualitative des mûriers. La température doit être supérieure à 10° C et inférieure à 40° C, autrement cela a un effet sur la croissance du mûrier. La croissance des vers à soie cesse aussi quand la température est inférieure à 15° C et supérieure à 32° C et quand l'humidité est inférieure à 70 ou supérieure à 85 %. Pour l'élevage du poisson, la température de l'eau doit faire entre 5 et 35° C, tandis que 5 mg d'oxygène par litre, est idéal pour leur survie. Quand la teneur en oxygène atteint 1 mg / litre, les poissons remontent à la surface et quand elle est inférieure à 0,2 mg / litre ou que la température est en dessous de 3° C, ils meurent. Les mûriers, les vers à soie et les poissons ont donc des besoins environnementaux différents, mais on peut facilement les manipuler avec l'attention nécessaire dans le cadre de « l'écosystème digue de mûriers – mare à poissons ».

On estime qu'on peut transformer 20 kg d'herbe en 0,5 kg de carpe d'étang, ainsi que 0,25 kg de carpe à grosse tête ou de carpe argentée. Les feuilles de mûrier et de canne à sucre, l'herbe à éléphant, les cacahuètes et le maïs sont la nourriture de base des poissons. Les excréments de vers à soie contiennent 2,2 à 3,5 % d'azote, 2 à 2,5 % de phosphore et 1,5 à 2 % de potassium, ce qui est plus élevé que les taux des excréments de porcs, de moutons ou de bovins. On estime que 100 kg de feuilles de mûrier donnent 60 kg d'excréments de vers à soie, qui à leur tour génèrent 8 kg de poissons. Ces poissons peuvent servir de source importante de revenus et de protéines supplémentaires pour les sériciculteurs. De plus, la mare peut apporter de la boue fertile deux à trois fois par an. Les paysans chinois estiment que 100 000 kg de boue de la mare sont équivalents à 50 kg d'engrais chimiques, puisqu'ils contiennent 5 % de matière organique dont les plantes ont besoin. La boue de la mare agit aussi comme un herbicide, elle retarde l'évaporation de l'eau et maintient la fertilité du sol pendant une période plus longue (Bari, 1990).

Dans la ferme ISDP du *Central Silk Board*, à Dhubulia, dans l'ouest du Bengale, un lieu qui reste détrempé pendant plus de 9 mois par an, on prépare huit parterres pour recouvrir (1 544 m²) de terrains vagues submergés totalement inutilisables. Les huit parterres font 2135 cm × 427 cm (× 10 cm de profondeur). On réalise des surélévations sur les parterres constitués en juin - juillet 1989, avec de jeunes plants de la variété S1, espacés tous les 61 × 61 cm. Les plants de mûrier ont complètement pris racine à la fin de Décembre 1989, quand on les taille à 22,5 cm au-dessus du sol. On désherbe les surélévations réalisées, mais on n'applique pas d'engrais. Seuls les résidus du canal, qui contiennent des algues vertes, des plantes et des résidus d'animaux, sont amassés sur les surélévations en janvier 1990 quand les canaux sont principalement à sec. Pendant la troisième semaine de juin, quand la mousson bat son plein, on taille les plants. En moyenne, chaque surélévation produit 158 kg de feuilles ou presque 17 354 kg de feuilles / ha. Même en prenant en compte la quantité de terrain que l'on perd à cause de la préparation des canaux, la totalité des 1 544 m² de plantation, répartis en huit plates-formes et en neuf canaux donne 8 219 kg de feuilles / ha, ce que l'on pourrait appeler une production tampon (Sarkar et Prasad, 1991). Si on utilise aussi les canaux pour l'élevage de poissons, comme les habitants du delta de la rivière Pearl en Chine, on peut encore accroître les revenus des paysans de ces régions en Inde, que l'on a laissées complètement en jachère, en raison de leur nature à faible rendement ou parce qu'elles sont fréquemment sujettes à des inondations.

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE AVEC L'ELEVAGE LAITIER ET ANIMAL

Le mûrier blanc a toujours été considéré comme un arbre important pour le fourrage (Dwivedi, 1988). Une étude entreprise pour connaître l'étendue de la participation des jeunes des populations rurales dans différentes activités laitières, séricicoles et leurs caractéristiques socio-économiques révèle que la plupart des jeunes des fermes participent aux activités laitières en aidant les membres de la famille et seuls 10 à 15 % d'entre eux ont adopté exclusivement la laiterie. Au contraire en sériciculture, la majorité de la participation des jeunes (75 %) dans les fermes se fait de manière autonome plutôt que sous la forme d'une aide aux membres de la famille (Lakshmi Raju et Nataraju, 1998). Les animaux qui peuvent se nourrir des déchets de vers à soie sont les vaches, les moutons, les cochons, les buffles et la volaille (Majumder, 1997).

On estime qu'un demi-hectare de muraie peut produire au moins 10 à 20 000 kg de feuilles de mûrier / an, à partir desquelles on produit 500 à 600 kg de cocons et environ 20 % (350 - 400 kg / demi-hectare de culture ou 2000 — 2400 kg / demi hectare / an) de feuilles et / ou des brindilles que l'on considère comme des détritres de litière (feuilles non consommées et souches tendres) et suffit et convient comme fourrage pour trois vaches. En plus de cela, on peut utiliser environ 5 % du mûrier, soit sali soit inapte à cause de sa trop grande maturité, comme fourrage pour le bétail. L'élevage de trois vaches avec l'élevage des vers à soie permet à son tour de satisfaire les besoins en fumure d'un demi hectare de muraie et on peut utiliser les chrysalides pour en extraire l'huile ou pour nourrir la volaille (Radhakrishna et coll., 2000).

Les études réalisées par l'Institut National de la Recherche Laitière, à Bangalore révèlent que les feuilles de mûrier ont des teneurs plus élevées en protéines et en extraits d'éther et plus faibles en fibres brutes et en cendres, par comparaison aux autres nourritures alternatives pour le bétail, c'est-à-dire le maïs, le Jowar, l'herbe Napier, l'herbe de Rhodes etc... Bien que les tiges / les souches de mûrier forment une alternative bon marché / sans coût pour le bétail, il faut cependant éviter les détritres de litière contaminés par les désinfectants de litière. On peut seulement utiliser efficacement les détritres de litière, les jours suivant l'absence d'utilisation de désinfectants de litière. Les feuilles / les brindilles de mûrier ne sont pas inférieures pour l'apport des besoins énergétiques / productifs et pour la croissance corporelle du bétail et des animaux produisant du lait, qui ont un bon appétit et mangent de la feuille de mûrier, car elles ont un goût agréable.

Les observations tirées de la recherche montrent que l'alimentation d'une vache (pesant 300 à 400 kg) avec 5 kg de détritres de litière / jour pendant la période de lactation augmente le rendement en lait de 10 %. Cependant, selon le NDRI de Bangalore, l'excès d'alimentation avec des feuilles de mûrier entraîne de mauvaises conceptions / des fausses couches et l'élevage répété conduit de plus à la prolongation de la période de lactation, ce qui diminue la production de lait. Il faut donc éviter l'alimentation avec des feuilles de mûrier pendant la première moitié de la gestation et en général, il ne faut remplacer que 20 à 25 % des besoins alimentaires totaux du bétail par les déchets du mûrier comme fourrage. Dans les zones rurales du Karnataka, surtout à Kolar et à Bangalore, on élève en général deux vaches sur une parcelle de terrain d'un demi-hectare de mûrier et « **Le lait et la soie** » vont de pair et constituent la principale part des revenus dans cette zone. Cependant, selon Radhakrishna et coll., (2000), il faut restreindre l'utilisation des déchets de litière directement pour l'alimentation du bétail, lorsqu'on ignore correctement la lutte contre les maladies du ver à soie, car les détritres de litière contiennent une quantité maximum de pathogènes, s'il y a des éruptions de maladies, ce qui propage encore les maladies et contamine les lieux.

Avec la méthode d'alimentation par des branches / des pousses, on évite complètement le nettoyage des litières pendant le 4^{ème} et le 5^{ème} âges, les détritres de litière ne sont donc pas disponibles pour le bétail. Cependant, les fermiers utilisent les détritres de litière des trois derniers jours (partie supérieure) comme fourrage pour le bétail, ce qui représente 150 — 170 kg avec le système de rangées et 225-250 kg avec le système de trous. Les fermiers font sécher les détritres de litière des trois derniers

jours et ils les utilisent comme fourrage pour les chèvres et les moutons. Les substances extraites des pousses de mûrier sont efficaces pour améliorer la croissance des poils des animaux comme les lapins et les moutons. Les lapins aiment beaucoup les feuilles de mûrier. On dit que leur poids et la croissance de leurs poils sont meilleurs quand on les nourrit sur des feuilles de mûrier. Les moutons se nourrissent bien sur les feuilles et cela augmente leur rendement en lait. A la fin de la saison d'élevage, s'il reste des feuilles de mûrier dans la muraie, on peut les utiliser efficacement pour nourrir le bétail (Majumder, 1997). Quand on mélange les graisses extraites des chrysalides (30 % du poids sec) avec de l'aliment pour volaille, cela améliore leur capacité de ponte et cela a un effet sur la couleur du jaune d'oeuf. Quand on augmente la quantité de déchets à 20 % dans l'alimentation des volailles, la teneur du jaune d'oeuf en xanthophylle augmente et passe à 0,017 mg / oeuf (Majumder, 1997).

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE AVEC LES INDUSTRIES PHARMACEUTIQUES

Les plantes hôtes et les vers à soie, qui permettent de fabriquer des vêtements en soie, renferment de nombreuses possibilités pour l'identification, l'évaluation et la mise au point de médicaments variés. Différents types d'extraits bruts de fleurs, de fruits, de graines, de feuilles, d'écorces et de racines de nombreuses plantes hôtes du ver à soie mûrier et non-mûrier ont une valeur médicinale majeure pour les industries pharmaceutiques et représentent une part majeure de la pharmacopée traditionnelle pre-scientifique ou moderne. La flore médicinale séricigène indienne est l'une des flores les plus riches et les plus cosmopolites aux potentialités thérapeutiques importantes que Srivastav et Thangavelu (2005) ont décrit en détail.

Le mûrier a de nombreuses valeurs pharmaceutiques (Chinnaswamy et coll., 1993). Les extraits de racine de *M. nigra* qui pousse de manière abondante dans le Jammu, le Cachemire et le Darjeeling, ont le pouvoir inné de supprimer / d'élever les sucres du sang, si on les prend au cours d'un repas. La moranoline (dérivée de *Morus*), plus connue sous le nom de Dexynojirimycine (DNJ) est un analogue de sucre. Les scientifiques ont trouvé que la glycoprotéine 120 que l'on trouve à la surface même du virus de l'immunodéficience Humaine (HIV), transportant un nombre anormalement important de chaînes latérales du sucre devient inerte et perd sa capacité à envahir de nouvelles cellules en la présence de l'alcaloïde DNJ. On a aussi trouvé que la DNJ peut aussi baisser les alphaglucosidases de l'intestin. Quand on a testé le médicament et ses formes variées, contre le diabète, cela a entraîné l'identification d'un nouveau médicament, l'homonojirimycine, qui peut lutter de manière efficace contre le diabète (Ray, 1990). Les feuilles de mûrier ont aussi des propriétés d'anti-oxydation et leur utilisation régulière comme thé pourrait lutter contre le vieillissement. De plus, les feuilles de mûrier sont très efficaces pour lutter contre la tension artérielle élevée, faire baisser le niveau de cholestérol, lutter contre le cancer, absorber les métaux lourds dans les boissons, soulager l'artériosclérose et prévenir l'hyperlipémie. Les jeunes feuilles de mûrier, recueillies au printemps sont plus efficaces. On consomme les feuilles de mûrier, lavées, séchées et réduites en poudre comme boisson dans de l'eau froide. Il n'est pas conseillé de bouillir les feuilles (Sharma et Sinha, 2000). Au Japon, le thé préparé à partir de feuilles de mûrier, est consommé comme aliment sain traditionnel (Nomura, 1988). Tsushida et coll., (1987) et Machii (1990) ont mesuré l'acide gamma-amino butyrique (GABA) dans le thé et les feuilles de mûrier et mis au point « le thé gaboron » en utilisant le gaz N₂. Ce thé a la propriété de lutter contre la pression artérielle élevée (Omori et coll., 1987). Honshina Co. Ltd, Saitama, au Japon, a aussi commercialisé le thé dérivé de la feuille de mûrier. Shimizu et coll., ont rapporté que la teneur en DOPA, qui se trouve à de très faibles concentrations dans les feuilles de mûrier, pourrait ne pas avoir d'effets anti-appétents chez les insectes. Comme l'acide caféique est très actif par rapport à l'activité anti-bactérienne (Iizuka et coll., 1976), Shimizu et coll., (1982) ont suggéré que la présence de L-DOPA dans les feuilles de mûrier pourrait agir comme précurseur de l'acide caféique chez les mammifères. Puisque les amines biogéniques et leurs précurseurs sont produits en quantités traces, on peut prendre régulièrement « le thé Kuwacha » à base de feuilles de

mûrier, sans aucun effet pharmacologique ou toxique, cependant, il faut éviter la surdose, en raison de la présence de gamma-GABA (Singhal et coll., 2000). On utilise le jus de fruit de mûrier pour guérir les maux de gorge, la fièvre, la dyspepsie et la mélancolie tandis que l'extrait alcoolique des racines est efficace pour faire baisser la tension artérielle. Une substance chimique, appelée le solanasol, présente dans les feuilles de mûrier et les excréments de ver à soie, a un sens sur le plan pharmaceutique. On utilise la chlorophylle extraite des détritres du ver à soie au moyen d'un solvant et d'un produit adaptés dans la médecine en Chine et au Japon (Majumdar, 1997). Singhal et coll., (2000) ont passé en revue l'importance du mûrier dans les industries pharmaceutiques.

Les chercheurs chinois ont constaté que les peptides anti-bactériens présents dans les vers à soie du mûrier luttent contre les maladies chez les êtres humains (Iyengar, 1998). Hongulu et coll., (1987) ont constaté que les peptides anti-bactériens de *Bombyx mori* détruisent les cellules K562 de la leucémie myélogène. La *Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine* a mis au point un médicament « le guanxuebao » à partir des excréments de ver à soie, qui a un taux d'efficacité de 95,6 % pour le traitement des malades du cancer (Mandel, 1991). Les scientifiques japonais de la Station Expérimentale de Sériciculture, de la Préfecture de Miyagi et de l'Université d'Iwate ont préparé une fraction anti-fongique de l'hémolymphe de ver à soie, qui inhibe la croissance mycéliale de *Pyricularia oryzae*, de *Fusarium oxysporum*, de *F. cucurmerinum*, de *Glomerella cingulata* et d'*Alternaria porii* (Iyengar, 2000).

L'utilisation de préparations à base de chitine pour le traitement post-opératoire des opérations internes, c'est-à-dire la conchotomie, la déviatomie, la polypectomie, montre qu'elle est plus facile à utiliser et qu'elle accélère la guérison des blessures (Sagar et coll., 1991). Le chitosan dérivé de la chitine présente une activité anti-microbienne contre des bactéries et des champignons variés (Machida, 1992). Il présente des fonctions d'immunoadjuvant et d'agent antiviral et stimule aussi la lymphokine et agit en tant qu'agent anti-viral et anti-tumeur. En tant qu'agent anti sordes, il empêche les bactéries carcinogéniques d'apparaître sur les dents (Katti et coll., 1996). En raison de sa faible toxicité, la membrane de chitosan biocompatible régénérée restreint le saignement dans les principales opérations et possède d'excellents effets de guérison des blessures (Sagar et coll., 1991 ; Katti et coll., 1996). On utilise la chitine tout comme le chitosan pour panser les blessures, pour les lentilles de contact et pour l'amélioration des propriétés de dissolution de médicaments peu solubles tels que la griséofulvine, la phénytoïne, le phénobarbital, la predni-solone et l'ineométhacine d'acide flufenamique. La chitine et les chitosans tirés des chrysalides ont des applications très importantes dans les industries pharmaceutiques.

On utilise la soie pour faire des sutures et on peut l'inclure dans les textiles médicaux, tels que les fibres, les tendons, les ligaments artificiels, les vaisseaux sanguins et les greffes de peau en raison de ses excellentes propriétés mécaniques et de sa force. On peut aussi l'utiliser dans les lentilles de contact ou dans un système de désintoxication aux drogues, y compris dans la régénération des tissus ou même chez les victimes de brûlures (Singhal et coll., 2000).

On pourrait extraire certains composants organiques comme la pâte de chlorophylle, le carotène, le phytol et le tricontanol par une transformation industrielle. On utilise la pâte de chlorophylle dans l'industrie pharmaceutique pour le traitement des maladies gastriques comme l'hépatite du foie et certaines maladies du sang. On peut utiliser le sodium - cuivre - chlorophylle pour le traitement des maladies de l'estomac, l'hépatite, la pancréatite et la néphrite chronique. Aux USA, il existe plus de 30 types de médicaments qui contiennent du sodium - chlorophylle - cuivre. On a extrait de la pâte de chlorophylle des excréments des races bivoltines KA du ver à soie en Inde (Revanasiddaiah et Yashoda Bai, 1999). On utilise le carotène pour fabriquer des médicaments pour le traitement des maladies du tube digestif ou de l'organe respiratoire. Le phytol est la matière première des vitamines E et K tandis qu'on utilise beaucoup le tricontanol comme un régulateur formidable de la croissance des plantes (Singhal et coll., 2000).

On a découvert l'effet de la poudre de ver à soie sur la diminution du glucose au Département de Sériciculture et d'Entomologie, de l'Institut National des Sciences et des Technologies Agricoles, à

Suwon, en Corée du sud. En conséquence, l'élevage de vers à soie a augmenté là-bas de 31 627 boîtes en 1995 à 54 000 en 1997 et 1998 et la poudre de ver à soie joue un rôle important en tant que **nourriture fonctionnelle** que de nombreux diabétiques préfèrent. Comme la sérécine, une protéine non digestible est produite dans la glande sérécigène juste après le 3^{ème} jour du 5^{ème} âge, on sèche le ver à soie après cette étape pour obtenir la poudre de ver à soie, de préférence par une technique à froid et à sec plutôt que par une technique à chaud et à sec. La protéine de la soie, la fibroïne, est aussi très demandée, non seulement pour cela, mais aussi pour son utilisation comme peau artificielle dans la chirurgie esthétique. On utilise la scléroprotéine fibreuse pour fabriquer un fil chirurgical, qui est facilement absorbé par la peau (Sharma et Sinha, 2000).

Les chercheurs du *Natural Product Research Institute*, de l'Université Nationale de Séoul et du *Seoul National University* et du *National Sericulture and Entomology Research Institute*, Corée du sud ont mis au point une méthodologie pour cultiver les **cordyceps**, l'herbe rare miraculeuse sur le corps des vers à soie. Elle est présente à l'état naturel dans les régions montagneuses de Chine, du Tibet, et du Népal à une altitude de 3000 m au dessus du niveau de la mer. Ces champignons plus petits que les doigts valent plus que leur poids en or, puisqu'ils exercent des effets médicinaux qui permettent de récupérer de la fatigue, de lutter contre le vieillissement et contre le cancer. De plus, les acides aminés obtenus par résolution biochimique permettent de dessouler et activent la fonction du foie. La production de **cordyceps** en Corée du sud a atteint 6 t en 1997 et est passée à 30 t en 1999 et les fermiers gagnent 5 fois plus en produisant de la poudre de ver à soie, et 6,5 fois plus en produisant des **cordyceps** par comparaison à la production traditionnelle de cocons (Sharma et Sinha, 2000). On donne la plante hôte alternée *Lactuca sativa* en cas de bronchite et d'asthme. On utilise sa tige et sa racine comme cataplasmes pour les brûlures et les ulcères douloureux (Sinha, 1996).

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE AVEC LES INDUSTRIES OLEAGINEUSES

(a) Huile des chrysalides de vers à soie :

Pendant leur développement biologique, les chrysalides synthétisent de l'huile, que l'on peut extraire de la poudre de chrysalides séchées par deux méthodes, c'est-à-dire par l'extraction avec des solvants, ou par pression, décrites par Bose et Majumder (1990). La méthode d'extraction à chaud donne plus de pourcentage d'huile que l'extraction à froid. On peut raffiner l'huile par la distillation à la vapeur ou par la filtration avec du charbon actif. Les numéros iodure et de saponification de l'huile de chrysalide de *Bombyx mori* sont respectivement 110 et 210, qui sont comparables à ceux de l'huile de tournesol. La valeur de saponification, la valeur acide et les valeurs ester de l'huile de chrysalide d'*Antheraea assamensis* sont respectivement 190,2 ; 131,2 et 59,0. L'Italie est le deuxième plus grand producteur d'huile de chrysalide, suivie par le Japon. On peut utiliser de l'huile de graine de lin (75 %) mélangée avec de l'huile de chrysalide (25 %) pour la préparation de peintures et de vernis. Le stérol, isolé de l'huile de chrysalide est un très bon tonique capillaire et on peut l'utiliser pour la fabrication de savon et de bougies (Bose et Majumder, 1990). On utilise l'huile de chrysalide pour la fabrication d'un composant « le Gunmaile », que l'on utilise dans les maladies du foie et du sang (Sugun et Kumar, 1996). La production de pleurotes *Pleurotus sajrcaju* cultivés sous les strates de déchets du ver à soie eri donne des profits nets plus élevés par comparaison à l'élevage sous les strates de paille de riz (Baruah et coll., 1999).

On utilise la lécithine dans de nombreux produits alimentaires et pharmaceutiques. On l'utilise aussi comme anti-oxydant dans des huiles végétales et dans l'huile de foie de poisson, en raison de sa solubilité élevée dans les graisses et dans les huiles et de ses propriétés de comestibilité et de son absence d'effets nuisibles sur les produits (Ghatak et Krishnamurthy, 1995 ; Calkin, 1947). On importe plus de 200 tonnes de lécithine en Inde annuellement. On peut donc exploiter de grandes quantités de lécithine, que l'on trouve dans les déchets de chrysalides, comme une ressource naturelle autochtone (Majumder et coll., 1996).

(b) Huile provenant des plantes hôtes :

Les graines de *Morus alba* donnent environ 25-35 % d'huile comestible (Jain et coll., 1990). Par ailleurs, les graines de certaines plantes hôtes non mûrier donnent aussi de l'huile et des acides gras et peuvent servir de matières premières pour les industries oléagineuses (Srivastav et Thangavelu, 2005).

INTEGRATION DE LA SERICICULTURE AUX INDUSTRIES DE TANNAGE ET DU CUIR

On peut fabriquer du cuir artificiel en transformant l'écorce de mûrier (Majumdar, 1997). On pourrait aussi utiliser le précipitat de protéine de soie hydrolysée, séchée et réduite en poudre comme revêtement par-dessus de la mousse, pour donner un joli aspect de cuir de soie (Sharma et Sinha, 2000).

L'association de la sériciculture avec l'agriculture, l'horticulture, la sylviculture, l'élevage laitier et animal, la pisciculture, la pharmacie, les cosmétiques, l'industrie du bois, du tannage, du cuir, de l'alimentation et d'autres industries ferait donc de l'Inde non seulement un pays prospère et leader en sériciculture, mais allègerait aussi la pauvreté du pays par une gestion efficace et une distribution correcte des profits à l'ère post GATT, si notre secteur Recherche & Développement comprend les besoins de l'heure actuelle et identifie et met au point des technologies pouvant faire un plein usage des plantes hôtes du mûrier et non-mûrier et des déchets des vers à soie comme des sous-produits de valeur dans les industries des ressources biologiques et des sciences de la vie.

LARVAL MORTALITY AND COCOON MELTING IN SEED PRODUCTION OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. – CAUSATIVE FACTORS AND PREVENTIVE MEASURES IN INDIA

G. VEMANANDA REDDY, M. VENKATACHALAPATHY & C. K. KAMBLE

Silkworm Seed technology Laboratory, Central Silk Board, Kodathi, Carmelram Post, Bangalore - 560 035, India.

*The mortality occurs in silkworm, **Bombyx mori** quite frequently at different stages mainly due to the influence of physical, physiological and biological factors. The extent of damage caused to silk industry due to mortality is estimated at about 30-40 % under Indian conditions. Influence of different environmental factors, diseases, improper adoption of technologies during rearing led to the occurrence of mortality in silkworms. High temperature and low humidity conditions in summer causes physiological disorders during cocoon preservation subsequently they succumb to death. Generally this is referred as melting of cocoons, which affects seriously the egg production. Practically it becomes difficult for seed crop rearers and seed producers to maintain the quality of seed cocoons and seed respectively due to ever fluctuating environmental conditions under tropical areas. The reasons for mortality in the silkworms were discussed at various levels and appropriate measures suggested.*

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, larval mortality, cocoon melting, causative factors, preventive measures.

INTRODUCTION

In recent years melting of cocoons has become a major set back to seed production industry in India which in turn affects the productivity of silk yarn. Hence, it is worth knowing about the nature of cocoon melting and reasons for its occurrence. The cocoon melting can be explained as pupal death either due to physical injuries or physiological disorders leading to disease induction in larval and pupal stages of silkworm.

These melted cocoons are also referred as 'mute' or dead cocoons. The melting of cocoon is generally due to the occurrence of flacherie (bacterial disease), grasserie (viral disease) and muscardine (fungal disease) in silkworms. The uzi (pest) infestation also can cause mortality in pupae, depending upon the stage in which the infestation takes place. The occurrence and spread of these diseases depends mainly on the silkworm variety, developmental stages of larvae, environmental, physical injuries, physiological and nutritional factors including inappropriate practice of rearing techniques. Though the impact of cocoon melting on seed recovery and raw silk production is very high, the loss is not well documented. A huge difference in mortality rates of silkworms have been reported while presenting the data by different authors in India (Jameson, 1984., Periasamy, 1986., Samson *et al.* 1990., Haniffa *et al.* 1990., Ananatsiromani *et al.* 1994., Das *et al.* 1995., Doreswami, 2004., Jhansi Lakshmi *et al.* 2005, Manimegalai and Chandrasekharan, 2005., Chandrasekharan *et al.* 2006). Adaptability of silkworm, *B. mori* to environmental conditions is quite different from that

of wild insects. Domestication since time immemorial and continuous breeding through ages has been carried out to increase the silk production. As a whole, the human interest is centered on exploitation of this insect, for the production of silk, the queen of Textiles/fibers.

Thus the object of sericulture is the production of large quantity of excellent cocoons with good quality silk. To achieve this, besides silkworm breed improvement, emphasis should also be given towards the methods of mulberry cultivation, production of quality silkworm seed, silkworm rearing, proper mounting and spinning of larvae and production of quality reeling cocoons. The causes of mortality in silkworms have been reviewed and discussed in detail and the potential measures to minimize the loss to the extent possible in cocoon and seed production have been suggested.

CAUSATIVE FACTORS OF LARVAL MORTALITY AND COCOON MELTING

a) Physical injuries:

The silkworm spins the cocoon shell around its body as a protective shield from the enemies and also to overcome environmental menaces. Inside the shell, the silkworm transforms into pupa and later metamorphoses itself into a moth. Subsequently it emerges out from the cocoon shell. In spite of shell protection, the pupal melting/mortality is commonly seen in the cocoons.

Early harvesting of cocoons i.e. 4th / 5th day after mounting during pre-pupal or tender (soft) pupal stage in winter and rainy seasons and subsequent transportation of cocoons damage the pupae. Transportation of bivoltine seed cocoon increases the melting from 5 to 25% as the distance increased from 65 km to 400 km with 2 h and 12 h journey respectively (Shiva Kumar *et al.* 1994). Due to the mechanical injury, the pupal skin gets ruptured and haemolymph oozes out, which in turn increases occurrence of stained cocoons. Such cocoons will melt after bacterial infection. Insects have a high blood volume at the time of ecdysis, and reduced thereafter. Increase in blood volume, which occurs before ecdysis is largely at the expense of cellular and gut water. When the blood volume decreases, due to small physical injury, the silkworm cannot exert enough pressure on the old cuticle and eventually dies (Carlson and Bently, 1977., Reynolds, 1980). Maintenance of high internal pressure during larval moulting, larval-pupal or pupal adult ecdysis by air-swallowing/inhaling will lead to excessive bleeding in injured insects and they will be unable to emerge out. In such cases, the loss of blood is probably the direct cause for failure in ecdysis (Jungreis, 1979., Reynolds, 1980). In some cases lack of sufficient blood in moths can seriously impair the process of expansion of wings during metamorphosis. Iwanami *et al.* (1985) reported that the bleeding pupae in the cocoons contaminated with the infection of pathogenic bacteria like *Serratia marcescens* or *Streptococcus faecium* will die. The bacterial examination of the dead larvae and pupae in cocoons indicated that the deaths due to septicemia were high in pupae. Many of the bacteria were isolated from the exuviae of pupae. This finding suggests that the bacteria adhering to the larvae were introduced into the cocoon. Thus the exuviae are the source of contamination in the cocoon. The bacteria in the cocoon propagate easily under high temperature and moisture conditions, thereby promoting the contamination of the cocoons (Iwanami *et al.* 1985).

Sex separation 2 to 3 days prior to emergence causes injury to pupae leading to septicemia (Anonymous, 1975). Silkworm larvae have adaptive nature of both negative geo-orientation and positive photo-orientation during spinning which help in easy moth emergence. Negative geo-orientation helps to keep head upward posture for successful escape (emergence) of moths from the cocoons. Just after the larval-pupal ecdysis, the cuticle (skin) of newly emerged pupae was very vulnerable and it will be injured by the friction with cocoon walls caused by the peristaltic behaviour of ecdysis, causing individuals to bleed and ultimately die (Horie and Shimizu, 1990). In the head down posture of pupae inside the cocoons, the weight of abdomen causes rupture of soft skin at thoracic region and die (Horie and Shimizu, 1990). According to Omura (1950) the cocoons of wild silkworm, *B. mandarina* formed in various angles depending on the inclines of the mulberry leaves

in the field, but the pupae were found to be a head-up posture in the cocoons to enable easy eclosion of moths.

b) Environmental factors:

Homeotherms (warm blooded animals) by various biological means are able to maintain constant body temperature to carry out the metabolic processes in harmony and maintain their life (Ross, 1961., Wigglesworth, 1965, 1970, 1972., Rockstein, 1974., Hoffmann, 1985). However, poikilotherms (cold blooded animals) have no such internal thermoregulatory mechanisms and they meet these challenges by behavioral responses (May, 1979., Hoffman, 1985). Hence, the impact of temperature on the latter organisms particularly on domesticated silkworms is more profound. In fact the preference for certain environmental conditions by an animal is the result of the interplay among many physiological parameters and adoption to certain ecological conditions. Relative humidity affects diverse physiological parameters in insects and also plays an important role both on the survival and reproduction of organisms (Engelmann, 1970). Any change from the optimal range of relative humidity (70-80%), adversely affects the various components of reproduction (Puttaswamygowda, 1988). This is because the ambient humidity will determine the internal fluid dynamics of organisms (Engelmann, 1970., Rockstein, 1974). The environment plays a dominant role in the maintenance of life of silkworms. The major factors like temperature, humidity and air cause direct and indirect effects on silkworms and induce mortality (Yokoyama, 1962., Ayuzawa *et al.* 1972). The loss in cocoon production due to silkworm diseases (mortality) ranges from 30-40% in a year under Indian conditions (Anantha Siromani *et al.* 1994).

However, during the last decade development of new technologies and their systematic application in the field led to progressive improvement in the cocoon production (60-80 kg/100Dfls) in India (Vemananda Reddy *et al.* 2005, Dandin *et al.* 2006 and Nirmal Kumar *et al.* 2006). Since, the cocooning ratio and pupation rate largely depend on the viability of the larval stage, the induction of cocoon melting almost starts in the larval stage itself (Loases Thakul, 1972). No silkworm race is completely immune to diseases (Jayaramaiah and Kuberappa, 1978), and different races show variation in their susceptibility to different diseases (Liu, 1984). According to Jhansilakshmi *et al.* 2005, the bivoltines are most susceptible to *Beauveria bassiana* compared to other races. There was significant difference in the incidence of diseases between the races (Singh *et al.* 1990). Benchamin and Krishnaswamy (1981a, 1981b) have reported less melting in polyvoltine breeds compared to the bivoltines. Their investigation also revealed that among the bivoltine breeds the breeds with Chinese race (oval) show less melting over the breeds with dumb-bell cocoons. It is reported that the environmental factors provided during spinning directly induce the melting (Vemananda Reddy *et al.* 2004, Venkatachalapathy *et al.* 2004). High temperature and humidity during spinning period results in high cocoon melting (Ullal and Narasimhanna, 1987., Krishnaswamy, 1986, Benchamin and Nagaraj, 1987; Vemananda Reddy *et al.* 2004., Venkatachalapathy, *et al.* 2004). High temperature beyond 32° C is affecting the development of pupae and reduces the rate of moth emergence which leads to poor egg laying by the weak moths (Puttaswamy Gowda, 1988; Vemananda Reddy *et al.* 2003). This type of environmental conditions during spinning also bring certain physiological changes including the alteration of the hormonal balance and induced the formation of semi-pupae (Dauer larvae) in both Multivoltine (up to 38%) and Bivoltine silkworms (up to 20%) (Vemananda Reddy *et al.* 2003).

It was reported that optimum temperature during preservation of pupae/seed cocoons is 23-25°C and desirable humidity is about 70% (Anonymous, 1975). Incase the temperature and humidity during the pupal preservation is high, the number of septicemia infected pupae and moths will increase proportionately (Iwanami *et al.* 1985). Temperature higher than 30°C or lower than 20°C will result in reduced fecundity with increased unfertilized eggs (Yokoyama, 1962., Anonymous, 1975). Relative humidity is playing crucial role in the rhythm of eclosion in the adult silkworms which starts

at about 6.00 am and will generally coincide with periods of high environmental humidity and thus limiting water loss from the body to enable moths for simultaneous emergence (Hinton, 1981).

When the humidity is low (35-45%), the pupal development will be slow (Puttaswamy Gowda, 1988). The percentage of eclosion (emergence) will decrease and number of moths failing to mate will also increase. If it is dry at the later stages of seed cocoon preservation (older pupal stage), the effect will be serious. Since, the weight loss (water loss) in the pupal stage is about 1-2% in females and 1.5-2.5% in males per day at normal room temperature condition (unpublished data), it appears that the older pupae might be under stress of desiccation. In such circumstances most of the histogenic activities (new organ formation) will suffer and the result will be the death of either pharate adult (inside the pupal skin) or the adult moth after escape from the pupal skin. Hence, at high temperature and low humidity conditions the rate of moth emergence declines drastically and also leads to the occurrence of collapsible eggs i.e. immediately after oviposition, the eggs will collapse and die (Sugai *et al.* 1975, Ohtsuki and Kanda, 1978).

A temperature and humidity dependent decline of moth emergence was reported by different authors (Tazima, 1962., Turner and Hair, 1966., Ayuzawa *et al.* 1972). Kovalev (1970) opined that decline (mortality) is related to physiological weakness of moths. While this is true as a general inference, the actual mechanics involved in this "physiological weakness" is not yet explored in detail. The combined effects of temperature and humidity like, high temperature and low humidity, low temperature and high humidity and low humidity and low temperature on cocoon melting are different and show significant differences in the moth emergence in popular Indian silkworm breeds of PM, HM, NB7, NB18 and NB4D2. It was attributed to differing genomic architectures that are moulded by varied environmental conditions, which constitute components of selections. (Puttaswamy Gowda, 1988)

Manjula (1992) reported that the environmental factors in different agro-climatic zones have a greater impact on the yield of cocoons and silkworm egg production. The required temperature and relative humidity if not provided during the time of incubation of silkworm eggs, rearing of young age and adult silkworms, spinning, processing and preservation of silkworm cocoons may lead to increase in dead and melting cocoons. The melting ranged from 5.75 to 20.76 % in NB7, 8.27 to 25.27% in KA, 4.91 to 39.72 % in NB4D2 and 0.17 to 30.34% in NB18.

During the pupal development, when the compound eyes are coloured, the rate of respiration gradually increases with large amount of carbon-di-oxide (CO₂) release. During this period, ventilation is necessary to avoid the toxic effect of CO₂ on developing pupae and to minimize the mortality (Horie *et al.* 1976). Improper preservation of seed cocoons without proper aeration, particularly during egg maturation in the late age pupae leads to the occurrence of dead eggs and also to an increase in pupal mortality (Sugai *et al.* 1975).

During the wet part of summer although the factors for silkworm growth are good, yet there is a high mortality of the 5th instar larvae and pupae. This is possibly due to high water content of mulberry leaves and a low transpiration loss from the larval body (Krishnaswami *et al.* 1970., Paul *et al.* 1992). The percentage of silkworms with successful cocooning and transforming into pupae are always high in the case of optimum or near optimum rearing conditions of growing silkworms. Any constant temperature during rearing and spinning within the range of 23-28°C will also help in getting more pupation rate (Vemananda Reddy *et al.*, 2001-02). Rearing conditions of high temperature (27-32°C) and high humidity (86-96%) is favorable for quick larval growth, but results in high larval mortality and low pupation (Paul *et al.* 1992). During rainy season, particularly on heavy rainy days the mulberry leaves will become inferior in quality and have great influence upon the cocoon melting (Hasegawa and Hayasaka, 1985., Shunlin *et al.* 1994). Further, substantially it was confirmed by feeding bivoltine silkworms with different mulberry varieties recorded high melting in rainy season (Giridhar *et al.* 1990).

c) Sexual differences:

The females are more vulnerable to fluctuations of temperature and humidity conditions and susceptible to different diseases and suffer more than males. Genetically also the females are weaker than the males as the 'W' chromosomes carry no genes in case of females (Tazima, 1955., Sturnni-Kov, 1983). Hence, they are weak due to lack of genetic protection from diseases. This is clear from the fact that the expected ratio of female: male is 1:1, virtually the female ratio at pupal stage is less than that of male irrespective of the season and breeds (Tazima, 1955).

d) Photoperiod:

The study conducted by Sivarami Reddy *et al.*, (1994) revealed that the long day photoperiod conditions induces heavy larval mortality compared to short day conditions during larval ecdysis. The larval mortality was very less during early larval moulting periods than the latter moults resulting in highest larval mortality during 4th larval ecdysis.

e) Physiological disorders and health of silkworm:

In pre-pupal and pupal stages the metabolism takes place actively. During these stages new organ formation and degeneration of old organs occurs at a tremendous faster rate due to histogenesis and histolysis. During this active metabolism (process of metamorphosis), for a common man, pupae may appear as if they are in resting stage. But physiologically it is a very active stage, during which the development of reproductive system completes its structural and functional status. For seed production, the major physiological events like spermatogenesis and oogenesis are very important. As the functions of these two physiological events are temperature sensitive, the primary step in all grainages should be to protect the seed cocoons from drastic fluctuating environmental conditions, so as to avoid damage to the pupae and to maintain the reproductive potential of the emerged moths (Vemananda Reddy *et al.*, 2004).

The rate of carbon-di-oxide output ranges from 20-50 μ moles per gram body weight/hr during the larval stage. Spinning initiation to just before pupal-adult ecdysis the rate of CO₂ output/ O₂ uptake shows 'U' shape curve and then it rapidly increased just after emergence (Horie *et al.* 1976). CO₂ output for one day in adult stage is 1.95 m moles per individual in males and 0.59 m moles/moth in females. The age at which respiration is lowest may be corresponding to the turning point of metabolism i.e., from histolysis to histogenesis. Before this turning point, rate of O₂ uptake per unit weight is larger in males than females, but reduces subsequently (Anonymous, 1975).

At the time of emergence, moths release an alkaline fluid containing cocoanase enzyme through their mouth. Thus the moth wets the cocoon shell with the alkaline fluid and pierces open the cocoon shell, so as to emerge out of it. This emergence fluid is an indispensable substance for the moth's life (Wang *et al.* 2005). In case the amount of the emergence fluid is very less due to dry conditions, the moth cannot come out of the cocoon and eventually dies within the shell (Kafatos and Williams, 1964., Puttaswamy Gowda, 1988).

Temperature plays a key role in the determination of the rate of development, mortality, fecundity and voltinism in the silkworm (Tazima, 1978). High temperature (30° C) results in lengthening of the interior parts of the ovaries, which contain 14.5 to 15%, degenerated eggs and also fluctuation of temperature will lead to reduction in moth emergence due to physiological weakness of moths (Kovalev, 1970). Certain physiological disorders as a sequel to severe viral, bacterial or pebrine infection render the females helpless in releasing/laying the eggs (Vemananda Reddy *et al.*, 1992; Patil *et al.*, 2002).

f) Pathogens:

The route of infection in terrestrial insects including silkworm, has no evidence so far with viruses/bacteria through the integument and spiracle. Most of these pathogens infection occurs per orally and others through the eggs (Watanabe, 1964, 1971, 1988., Govindan *et al.* 1998)

The sterilizing power of an infected hypodermal cell before the formation of the polyhedra was able to form cuticle during the moult. On the other hand, a hypodermal cell, which contained polyhedra, was unable to form new cuticle and the larva could not undergo ecdysis because of the inability of the hypodermal cell to form a new cuticle and succumbed to death (Watanabe and Aruga, 1971). Infectivity and pathogenicity of *Nosema bombycis* is very high in silkworm and increases larval mortality and pupal melting (Fuziwara, 1980). Matsubara and Hayashiya (1969) believed that one of the causes for the increased susceptibility was the absence of antiviral substance in the gut juice of the larvae when reared on the artificial diet and inferior quality leaf produced in autumn season. In the urine samples of laboratory reared healthy larvae, bacteria were detected but a high bacterial count was rare. Pooled urine samples of flacherie affected larvae always showed a high bacterial count (Kumararaj, 1969). This contaminated urine with bacteria when it falls on the other healthy larvae/cocoon during cocooning, the spread of flacherie will be fast and thus may enhance the cocoon melting/mortality, particularly in rainy season, during which each larva excrete approximately 0.4 ml of urine (Anonymous, 1975., Horie *et al.* 1976).

Among the silkworm diseases, grasserie caused by *Bombyx mori* Nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) is the major one which accounts for 30-40%. Apart from causing larval mortality, grasserie is also responsible for the post cocoon mortality (melting) 42.3%, muscardine (20.3%), uzi (20.1%) and flacherie (17.0%) (Chandrasekharan *et al.* 2006).

In the larva, digestive fluid weakens when the pH is < 9 and bacteria swallowed along with the mulberry leaves grow in the digestive organs (Periasamy, 1986). The bacteria absorb the nutrients from the body of silkworm and destroy the peritrophic membrane and membranous tissue of intestine and leads to flacherie (Ono and Kato, 1968). Chigasaki (1937) considered flacherie to be a sub-chronic disease, caused by a primary physiological disorder and a secondary infection by bacteria. The physiological disorder is brought about mainly by improper temperature and humidity (Matsumura, 1928., Matsumura *et al.* 1928), contaminated air (Suzuki, 1957), through the scales of silk moth (Yamazaki *et al.* 1966), insufficient nutrition from mulberry leaves (Watanabe, 1944) or by the poor handling of eggs (Kutsukake, 1944). Larval mortality caused by diseases increases due to prolonged starvation (Samson *et al.* 1990). The virus contaminated leaf also spread the pathogens from field to the rearing house contributing to epizootics (Inoue *et al.* 1974., Watanabe, *et al.* 1988., Govindan *et al.* 1998). Vago (1953) found that, feeding of silkworms with certain varieties of mulberry increased the incidence of virus diseases causing mortality. In Japan, the occurrence of cytoplasmic polyhedrosis in the silkworm is very low in spring but increases in autumn (Oba, 1955., Aruga, 1958). High incidence of cytoplasmic polyhedrosis in autumn seems to be associated with the quality of the mulberry leaves (Aruga, 1958). This observation was apparently substantiated by Ebihara (1966) after artificial diet experiments.

According to Sujuki *et al.* (1962) 0.5% CO₂ level even for 2 hours causes the occurrence of flacherie. As CO₂ level goes on increasing from 0.5-1.0% with less air current i.e., 2-4 cm/sec leads to 40-60% flacherie. Further, he envisaged that this disease might be controlled by removing toxic gases such as CO₂ and NH₃ (ammonia), which emanates from silkworms and the rearing beds (Yokoyama, 1963).

Dead silkworms release organic acid gases i. e. Indol gas, Propionic acid gas, Iso-valeric acid gas and *n*-butyric acid gas which will bring in larger physiological disorders in the silkworms. Infectious flacherie increases by Propionic acid gas and nuclear polyhedrosis by Iso-valeric acid gas (Nunome *et al.* 1971)

The relation between concentration of CO₂ in rearing room and the mortality of silkworms is linear (Sujuki *et al.* 1962., Yokoyama, 1963). High CO₂ level reduces the blood pH and induces weakness causing more larval mortality (Yokoyama., 1962, Kusunoki and Watanabe, 1982). Even the infection of silkworms with *Beauveria bassiana* in 5th age brings changes in pH value of blood, i.e. from 6.5 - 6.22 on the day of 5th age (Kusunoki and Watanabe, 1982). By consuming leaves with high (76%) water content, the larval blood specific gravity decreases from 1.036-1.022 and loses their

buffering activity, thereby larval and pupal mortality increases (Sakurai and Matumoto, 1956; Kusunoki and Watanabe, 1982).

g) Leaf quality:

However, good the silkworm breed may be, in spite of the care taken, disease takes heavy toll unless the leaf quality is of superior nature.

Sunlight deficiency may reduce leaf quality with the decrease in proteins and carbohydrates and increase in non-protein nitrate 'N'. The high content of nitrate 'N' in leaves may cause silkworm diseases and larval mortality (Shunlin *et al.* 1994).

Phosphorus deficiency in soil will decrease the leaf content of sucrose, reducing sugars and 'Ca' and increase the total content of non protein 'N' reducing the quality of mulberry leaves. Silkworm diseases found to be induced by feeding such leaves (Shunlin *et al.* 1994., Kurose, 1964).

It is confirmed that the silkworms reared on phosphorous deficient mulberry leaves could not complete their larval stage and die before spinning the cocoon (Kurose, 1964). If the dosage of nitrogen is deficient or in excess the pupation rate reduces (Ting-Xing *et al.* 1994).

Feeding of larvae with immature leaves containing high water content and low levels of carbohydrates, lipids, proteins, fiber and minerals (low ash content) affects the health of the larvae and causes larval and pupal mortality (Anonymous, 1975., Shunlin *et al.*, 1994., Anitheswari *et al.* 2005).

The mortality due to bacterial flacherie was very significant in 5th instar worms fed with tender leaves of nine varieties of mulberry, whereas the mortality was less when fed mature leaves (Periasamy, 1986). This was correctly supported by the basic physiological changes occurring in larvae as high ash content of the mature leaves is instrumental in increasing the physiological alkalinity of food with gut fluid pH of 9.5 to 10.2 and the ash content of tender leaves reduces the gut fluid pH to 8.22 to 7.8 and thereby the disease susceptibility (Periasamy, 1986).

On the day of heavy rain, most of the essential minerals such as Ca, Mg and K are eluted by rainwater from mulberry leaf/plant (Hasegawa & Hayasaka, 1985) into the soil. Feeding with such inferior quality leaf, the larval health will be affected and thereby spreading the diseases. Seasonal variation in Ascorbic acid was found to be significant and it was least during March-July. The high content was recorded in November, December and January months (Chakrabarthi & Singhal, 1996). The female larvae are more susceptible to amino acid imbalances in the diet than males (Horie *et al.* 1970).

When the average wind velocity becomes 10 m/s, mulberry branches start oscillating. When the wind velocity exceeds 20 m/s, the leaves on branches get broken. This damage in leaves and branches leads to the loss of 20-30% moisture. Such dry and injured leaves are hard and coarse because of less rainfall and contain less proteins and more cellulose. Silkworm which feed on such leaves will become weak, develop unevenly resulting in longer larval duration and poor cocoon yield with high mortality (Saito, 1997).

h) Chemicals:

Kuwana *et al.* (1968) have conducted several experiments and made observations on the relationship between concentration of chemicals and the mode of appearance of poisoning symptoms and mortality. Poisonous effect of chemicals generally induce vomiting, shrinking of larvae and eventually they die. According to Watanabe (1971) sub-lethal doses of certain insecticides also enhanced the susceptibility of the silkworm to virus infection. Different stressors such as low and high temperatures, H₂O₂, formalin, EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic acid), acetic acid, ether etc., are effective in inducing virus diseases in silkworms (Aruga, 1963). Garlic vapour also causes non-spinning and mortality in silkworms (Yamamasu, 1937; Venkatachalapathy *et al.*, 2004).

Feeding of mulberry leaves coated with organomercuric compounds like Ethyl Mercuric Phosphate (EMP), Ethyl Mercuric Chloride (EMS) and Methyl Mercuric Chloride (MMC) between

8 - 60 ppm to fifth instar larvae resulted in death of pupa as well as eggs. The pupal mortality was ranging from 25 – 100 % depending upon the quantum of compounds on the leaves (Kuribayashi, 1982). It was further demonstrated that the relationship between the stage at which EMP was administered and the hatchability of eggs laid subsequently shows that prepupal stage is very sensitive and the chemical which entered the eggs reduces hatchability (Kuribayashi, 1982).

Use of ineffective, lower concentrations than the recommended and insufficient quantity of disinfectants during rearing might lead to the occurrence of diseases and poor health of larvae particularly 4 th and 5 th instars silkworms.

SUGGESTIONS FOR IMPROVEMENT OF PUPATION RATE IN SEED COCOONS

The practices of integrated silkworm disease management technology (ISDMT) have resulted in stabilization of silkworm crops and prevention of diseases and also Integrated Nutrient Management (INM) improved the leaf quality and quantity substantially contributing to higher cocoon yields.

Appropriate egg handling is a pre-requisite for effective hatching and success of silkworm crops.

a) General:

1. Feed the larvae with good quality and quantity of leaf having the required anti microbial substances like Terpenoids, phenols and Flavonoids (Tanada and Kayo, 1993) to maintain the larval health in better condition through the rearing period.

2. In shoot feed system 2 feed is superior over 3 feed for seed crop as it improves the health of larvae and enhances the ERR and pupation rates under standard rearing conditions (Vemananda Reddy *et al.*, 2005).

3. Maintain the microenvironment during rearing which helps in the development of diseases resistant larvae.

4. To reduce the mortality and to improve the health conditions of the batch the larval rearing should be conducted under germ and pest free conditions.

5. With a uniform bed space of 0.54m^2 , the population group of 300 worms exhibited good results in spring whereas the population group of 200 worms behaved well in summer and autumn compared to 100, 400 and 500 worms (Dar and Singh, 1991).

6. Studies conducted on the effect of different spacing of mulberry plants on the rearing performance indicated that a low percentage of melting in spacing of $45\text{ cm} \times 45\text{ cm}$ and $0.9\text{ m} \times 0.9\text{ m}$ mulberry plots. But in the $45 \times 15\text{ cm}$ (row system) plot rearing performance has shown that melting of cocoon was very high during first 6 days of spinning (Pillai, 1979).

7. Mount the requisite number of matured larvae (bivoltines-50 larvae/ 30 cm^2 and multivoltines –60 larvae/ 30 cm^2) on mountages to avoid over crowding and bacterial contamination during spinning stage to obtain quality cocoons and better pupation rate. (Vemananda Reddy *et al.*, 2004)

8. More than rearing, mounting care like controlling temperature ($23-25^\circ\text{C}$), RH (65-75 %), wind current (0.5 to 1.0 mtrs/sec) and moderate light is essential to produce healthy cocoons (Yokoyama, 1962). Seed cocoons should be harvested on 6 th /7 th day after mounting of the larvae to avoid physical injury to pupae.

9. Transport cocoons in well ventilated plastic crates or bamboo baskets so as to protect them from physical damages and physiological injuries. Long distances transportation affects the maturation of ova and sperm (oogenesis and spermatogenesis), the major physiological activities, which are temperature sensitive and subsequently it will be reflected on the performance of the next generation.

10. Use of the feed supplement "SERIFEED" once in a day @ $1\text{g}/30\text{ cm}^2$ during late age rearing of silkworms has increased 4 % in ERR (Narayana swamy *et al.*, (2005).

11. The leaf extract of 0.4% of *Tridax procumbens* when sprayed @ 30 ml on a batch of 100 larvae, the larval mortality registered 9.58% during late age rearing over control 12.15% (Muruges *et al.* 2005).

12. Extra foliation of aqueous extract of *P. coryleifolia* and *P. ambionicus* at 800 ppm on 1st day of the 3rd instar significantly reduced the larval mortality due to grasserie (Ranganatha *et al.* (2003).

b) Rainy season:

1. Reduce the humidity on rainy days to desired level (70-75 %) to silkworms particularly in final stages by keeping fresh lime (25 kgs/100 dfls) in the rearing room. The lime can be dusted on the shoot bed, 30 mins. prior to feeding particularly during evening feed in late age rearing to control bed humidity and also disease. When the temperature is low (20-22°C) electric room heater can be used to raise the temperature up to 25°C.

2. Feed the larvae with required quantity of leaf only especially during rainy days to control/reduce the bed humidity.

3. Feed the fifth age larvae with coarse leaf, which is rich in Vitamin-C to improve the resistance of larvae to diseases (Gamo, 1941.. Ito, 1961a,b., Murthy, 1953 Chakrabarti and Singhal, 1996). Uniformly mature leaves required for final stage silkworm can be obtained by top-clipping mulberry branches (Kasiviswanath *et al.* 1981)

4. Preservation of leaf can be done in a separate room to avoid further increase in RH in the rearing room particularly during rainy days.

5. Depending up on the rainfall adjust the irrigation of the garden and on the day of rain harvest the leaf at suitable time.

6. To reduce the disease spread, apply 6 kg of bed disinfectant in case of shoot feeding as per the recommendation.

c) Winter Season:

1. Raise the temperature by electric heaters or by charcoal stove to increase the temperature, which can enhance the digestibility of larvae and health condition. High temperature (25° C) may also control the fungal growth. During spinning also high temperature (25° C) helps in proper spinning of cocoons with high pupation rate.

2. Many non-spinning silkworms appear during mass rearings and farmers occasionally suffer great financial loss in winter/ cold seasons. The new finding on the induction of spinning by ecdysone hormone is considered as an important technique, which can enhance the spinning faster by early maturation and early production of cocoons (Akai *et al.*, 1988; Sasindran Nair *et al.* 2003 & 2005)

d) Summer season:

1. Management of silkworm rearing in summer will be a difficult task for a farmer due to many factors like pikilothermic nature of silkworm, prevailing high temperature (30-40°C) and low humidity (30-60%) (Draught situation), deterioration of quality of leaf at faster rate after harvest, poor health of larvae and the occurrence of bacterial and viral diseases leads to high mortality of larvae and pupae.

2. Proper irrigation of mulberry garden is necessary to harvest quality leaf, which can satisfy the hungry larvae.

3. Feed the larvae always with fresh leaf.

4. Leaf preservation with proper care is essential. Other wise the leaf will lose water content as well as the essential vitamins like B- complex vitamins and vitamin-C will be utilized for the leaf respiration actively itself. This way the quality of leaf deteriorates and becomes unfit for larval feeding and causes poor growth. Hence, majority of the time the larvae will be crawling under starvation with

eating the hard/ dry leaf and become weak to resist various diseases resulting in bad silkworm crops with high rate of mortality in larvae and pupae.

To overcome this problem of larval mortality and cocoon melting, considerable amount of research work has to be done to develop suitable package of practices for mulberry (INM) and silkworm rearing techniques for better management. Unless using of suitable varieties of mulberry and silkworm it will be ever a problem in tropical sericulture.

To harvest better silkworm crops further studies are required on the following lines.

1. Development of INM for raising quality mulberry.
2. Development of hardy silkworm worm breeds.
3. Early disease detecting techniques to protect silkworms.
4. Development of suitable rearing techniques like leaf fortification methods, quality disinfectants and hygiene maintaining activities.

REFERENCES

- AKAI H., TAKABAYASHI K. & KIUCHI M. (1988) Induction of spinning from JH-treated larvae of *Bombyx mori* by ecdysteroid administration. J.Seric.Sci.Jpn., 57 (5), p.341-344.
- ANANTHA SIROMANI T., MEENA P. & VANITHA RANI R. (1994) Isolation and characterization of pathogenic bacterial species in the silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia., 34(1):97-102.
- ANITHESWARI K., PRASAD P. R. & RAO N. K. (2005) Influence of leaf maturity and duration of shade drying on mortality and weight of *Bombyx mori* L. larvae infected with nucleopolyhedrosis virus. Pest management and economic Zoology, 11(2):131-135
- ANONYMOUS. (1975) Textbook of tropical Sericulture. Japan overseas co-operation Volunteers, Japan. pp 118-193.
- ARATAKE Y., KAYAMURA T. & UENO H. (1973) Studies on the factors affecting the susceptibility of the silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Seric. Exp. Stn Japan, 25: 307-346.
- ARUGA H. (1958) Nogyo Oyobi Engei, 33: 455-459.
- ARUGA H. (1964) The induction of and resistance to nuclear and cytoplasmic polyhedrosis in silkworm. Indian J.Seric., 3:17-26.
- AYUZAWA C., SEKIDO I., YAMAKAWA K., SAKURAI U., KURATA W., YAGINUMA Y & TOKORO Y. (1972) Hand book on silkworm rearing. Fuji publishing company, Tokyo.
- BENCHAMIN K. V. & KRISHNASWAMY S. (1981a) Studies on the egg production efficiency in silkworm, *Bombyx mori* L. (i) on various factors contributing to egg production. In Proc. Sericult Symp & Seminar (Eds. T.S. Muthu Krishnan and S.R. Sree Rangaswamy), TNAU, Coimbatore, pp 1-6
- BENCHAMIN K. V. & KRISHNASWAMY S. (1981b) Studies on the egg production efficiency in silkworm, *Bombyx mori* L. (ii) Egg production efficiency in hybrid parents and its effective application. In Proc. Sericult Symp & Seminar (Eds. T.S. Muthu Krishnan and S.R. Sree Rangaswamy), TNAU, Coimbatore, pp 7-14.
- BENCHAMIN K. V. (2003) Silkworm seed production strategy and management. Proc. Natl. Semi. silkworm seed prod. SSTL, Bangalore, pp 107-114.
- BENCHAMIN K. V. & NAGARAJ C. S. (1987) Silkworm Rearing Techniques: In "Appropriate Sericulture Techniques". Ed.M.S.Jolly, ICTRETS, Mysore., pp 63-106.
- BOSE P.C., RATNA SEN & DUTTA R. K. (1995) Effects of foliar application of micronutrients to mulberry on the rearing performance of silkworm, *Bombyx mori* L. J.Seric., 3: 1-5.
- CARLSON J. R. & BENTLY D. (1977) Ecdysis: neural orchestration of a complex behavioural performance. Science., 195: 1006-1008.
- CHAKRABARTHI S. & SINGHAL B. K. (1996) Seasonal variation in ascorbic acid content of promising mulberry genotypes. Ind.J.Plant Physiol., 1(4): 298-299.

- CHANDRASEKHARAN, NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S.D., SELVAKUMAR AND DANDIN S.B. (2006) Grasserie and post cocoon mortality in silkworm. *Indian Silk*. 45(4), 12-13.
- CHIGASAKI Y. (1937) Bacteriological studies on the flacherie of the silkworm larva. *Sanshigakuho* (Japan), 19: 141-161.
- DANDIN.S.B., RAVINDRA SINGH ., RAGHAVENDRA RAO D., SUDHA V.N., UMADEVI K., KARIAPPA B.K., BASAVARAJA H.K & PREMALATHA V. (2006) Jayalakshmi : A promising Multi x Bi hybrid. *Indian silk* 45 (4) 5-6
- DAR H. U. & SINGH T. P. (1991) Influence of population density of silkworm, *Bombyx mori* L. on some economic traits. *Entamon.*, 16: 269-273.
- DAS B.K., SARKAR J., DAS C., DAS N. K. & SEN S. K. (1995) Seasonal effects on the relative performance of five bivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* in Malda. *Uttar Pradesh. Zool.*, 15: 91-96.
- DORESWAMY C., GOVINDAN R. & DEVAIAH M. C. (2004) ET50 for symptom expression and mortality in silkworm, *Bombyx mori* L. as influenced by synergistic infection of late larval flacherie pathogen. *Geobios.*, 31(2-3): 105-108.
- EBIHARA T. (1966) Report. Ibaragi Sericult.Exp.Sta., 1: 61-63.
- ENGELMANN F. (1970) The physiology of Insect reproduction, Pergimon press, Oxford New York.
- FUJIWARA T. (1980) Three microsporidians (*Nosema Sps*) from the silkworm, *Bombyx mori*. *J.Seric.Sci.Jpn.*, 49: 229-236
- GAMO T (1941) *J. Seric. Sci Jpn.*, 12:65
- GIRIDHAR K., SIVARAMI REDDY & SUBBA RAO M. (1990) Cocoon melting in popular silkworm (*B. mori*) breeds reared on different mulberry (*Morus* sp) varieties. *Indian.J.of Seric.* 29: 77-82.
- GOVINDAN R., NARAYANASWAMY T.K., & DEVAIAH M. C. (1998) Principles of Silkworm pathology. Seri. Scientific Publishers, Bangalore. pp 420.
- GUAN-JINGFANG & PAN-RUGIN (1994) Rural eco-environment (China) V.10 (2) pp19-21.
- HANIFFA M.A. THOMAS P. & ARUNACHALAM S. (1990) Effect of larval nutrition on survival, growth and reproduction in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia.*, 28: 563-575.
- HASEGAWA I & HAYASAKA T. (1985) Movement/distribution of rain Water and Leaching of Nutrients in the Volcanic Ashs oil under Mulberry Cultivation in the Warm Area with High Rainfall. *Bull. Seri.expt.Stu.*29 (5): 533-560.
- HINTON, H.E. (1981) Biology of insect eggs. Pergamon Press, New York
- HOFFMANN, K. (1985) Environmental Physiology and Bio-chemistry of Insects H. Haffman (ed) Springer-Verlag, New York.
- HORIE S. & SHIMIZU I. (1990) Geo-orientation and photo-orientation behaviour of *B.mori* at termination of cocoon construction. *Appl.Ent.zool.*, 25: 177-186.
- HORIE Y., INOKUCHI T. & WATANABE K. (1970) Effects of dietary amino acids balances on growth and cocoon quality in silkworm, *Bombyx mori* L. *Bull. Seric. Exp.Stn Japan.*, 24:345-365.
- HORIE Y., INOKUCHO T., WATANABE K., NAKASONE S & YANAGAWA H. (1976) Quantitative study of food utilization by the silkworm, *Bombyx mori*, through its life cycle-I. Economy of dry matter, energy and carbon. *Bull.Seric.Exp.Sta.*, 26, 411-442.
- HORIE, Y. (1978) Quantitative requirement of nutrients for growth of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Jarq.*, 12(4): 212-217.
- INOUE H., SATO F. & AYUZAWA C. (1974) Infection of an infectious flacherie virus of *Bombyx mori* to *Bombyx mori mandarina*. *Acta Sericologica*, 92 :120-125.
- ITO T. & ARAI N. (1965) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori* L IX Further studies on the nutritive effects of the Ascorbic acid. *Bull.Seric.Exp.Sta.*, 20(1): 1-19.
- ITO, T. (1961 a) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. IV- effect of ascorbic acid. *Bull.Sericult.Expt.Stn.*. 17(1): 119-136.
- ITO, T. (1961 b) Effect of dietary ascorbic acid on the silkworm, *Bombyx mori*. *Nature*. 192: 951-952.

- IWANAMI S., SENOMOTO & TOMITA K. (1985) Death of larvae and pupae of the silkworm, *Bombyx mori* caused by the bacterial contamination of the inner side of the cocoon. J. Seric. Sci. Jpn., 54:278-283.
- JAMESON, A.P. (1984) Report on the diseases of silkworms in India. International Books & periodicals supply service (IBS) New Delhi.
- JAYARAMAIAH, M AND KUBERAPPA, G.C. (1978) Silkworm mycoses. UAS, Technical report. University of Agricultural Sciences, Bangalore. 48:1-85.
- JHANSI LAKSHMI V.V.N.S., KAISER J., VENKAIAH K., BHARATHI D & SASTYA KUMAR D.V.R. (2005) Differential Susceptibility of silkworm, *Bombyx mori* L. races to white muscardine disease caused by *Beauveria bassiana* (Bals.)vuill. Entomon, 30(1): 13-18.
- JUNGREIS A.M. (1979) Physiology of moulting in insects. In advance insect. physiol., 14: 109-183
- KAFATOS F. C. & WILLIAMS C.M. (1964) Enzymatic mechanism for the escape of certain moths from their cocoons. Science, 146: 538-540
- KASIVISWANATHAN K., CHOUDHARY P.C., BONGALE U.D. & KRISHNASWAMI S. (1981) Effect of top-clipping on the growth and development pattern of Kanva-2 mulberry under irrigated conditions. Ind. J. Sericult., XX (1): 21-26
- KOVALEV P.A.(1970) Silkworm breeding stocks. Published in English by Central Silk Board, Bombay.
- KIRIMURA J., SUZUKI T & HASHIMOTO Y. (1962) Vitamin B complex content of mulberry leaves. Bull.Seric.Expt.Stn.Jpn., 17 (4): 545-557.
- KRISHNASWAMI S., ASAN M & SRIHARAN T. P. (1970) Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon crop production. Part-2. Quality differences due to leaf maturity. Indian J.Seric., IX:11-25.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. CSR&TI, Bulletin No.2
- KRISHNASWAMY S (1986). New technology of silkworm rearing, Central Silk Board, Bangalore, 560 001, India, pp 23.
- KUMARARAJ, S. (1969) Observations on dieresis and staining of cocoons in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian.J.Seric., VIII: 48-54.
- KURIBAYASHI, S. (1982) Studies on the effect of pesticides on the reproduction of the silkworm, *Bombyx mori* L. III Ovicidal action of organo mercuric compounds administered during the larval stage. J.Seric.Sci.Jpn., 51:167-175.
- KUROSE, T. (1964a) Studies on the dietetical value of phosphorus deficient mulberry leaves III. Rearing of the silkworm on phosphorus-deficient mulberry leaves. Sansi-Kenkyu , Acta Sericologia., 10: 1-6.
- KUROSE, T. (1964b) Studies on the dietetical value of phosphorus deficient mulberry leaves II rearing of the silkworm on Phosphorus deficient mulberry leaves. J. Sericult.Sci. Japan 33(4):333-338
- KUSUNOKI J. & WATANABE H. (1982) Changes in the haemolymph pH and specific gravity of the silkworm larvae, *Bombyx mori* infected with *Beauveria bassiana*. J. Sericult.Sci. Japan. 51: 447-448.
- KUTSUKAKE, H. (1944) On the effects of temperature and humidity during days after oviposition upon the hatching and growth of the silkworm. Nippon Shanshigaku Zasshi., 15, 18-20.
- KUWANA Z., NAKAMURA S. & SUGIYAMA (1968) Effects of insecticides on the silkworm larvae, *Bombyx mori* I. Analysis of insecticides in silkworm larvae. Relationship by means of Subcutaneous Injection and Topical and oral applications. Bull. Sericult. Exp.Sta.22 (1) : 123-180.
- LIU, S.X (1984) Identification on the resistance of silkworm (*Bombyx mori*) races to six types of silkworm diseases. Sericologia, 24: 377-382
- LOASES, T.W. (1972) Survey on the practical characters of some new bivoltine silkworm strains, K3, K4. Bull. Thai. Sericult. Res. Training center II p 44-46.
- MANIMEGALAI S & CHANDRAMOHAN N (2005) Botanicals for the management of bacterial flacherie of silkworm, *Bombyx mori* L Sericologia 45(1):51-58.

- MANJULA, A. (1992) Melting behaviour in Bivoltine silkworms. The Indian Textile Journal. 102(12): 58-63
- MATSUBARA F & HAYASHIYA K (1969) The susceptibility to the infection with nuclear polyhedrosis virus in the silkworm reared on artificial diet. J.Seric.Jpn. 38: 43-48.
- MATSUMURA S., HIGUCHI T & KITAJIMA M (1928) On the effect of humidity upon the silkworm. Bull. Nagano. Sericult. Expt. Sta., 4: 1-104.
- MATSUMURA, S. (1928) Studies on the enzyme in the silkworm – II. Effect of temperature on the action of enzymes (considerations on the effect of temperature upon the silkworm). Bull.Nagano.Sericult.Expt.Sta., 6: 1-54.
- MAY, M.L. (1979) Insect thermoregulation. Ann. Rev. Entomol. 24: 313-349
- MURTHY, M.R.V. (1953) Ascorbic acid was effective for increasing survival of larvae. Thesis. Bangalore University.
- MURUGESH K.A., BHASKAR R.N. & MAHALINGAM C.A. (2005) Effect of botanicals on larval mortality of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. in Progress of research in organic sericulture and seri-biproduct utilization. R. Govindan, R. Nayaka, B. Sannappa and D. Chandrappa (Eds) Seri scientific publishers, Bangalore pp 156-161.
- NAKAJIMA S. (1939) Flacherie of silkworm larvae induced by feeding with too young leaves and its prevention by addition of some chemical substance. Bull. Nagano. Sericult. Expt. Sta., 45:1-102.
- NARAYANASWAMY M., ANANDA KUMAR M. D. & ANANATHA NARAYANA S. R.(2005) Effect of feed supplement on biological parameters and its economic viability in silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae) Proc. 20th congress International Seri. Comm. 1: 335-345
- NIRMAL KUMAR S., KANIKA TRIVEDY., RAMESH M., DANDIN S.B., SHAKTI PRAKASH & MUNISWAMI REDDY (2006) Serinutrid- A semi- synthetic Diet for Chawki Silkworms. Indian Silk 45 (6) 10-13
- NUNUME T., SHIKATA M., MURATA T & MATSUMOTO T (1971) Studies on air hygiene of silkworms. VI – Detection of organic gases generated from dead silkworms and resistivities of silkworms to those gases. J.Seric.Sci.Jpn., 40,209-216.
- OBA, H. (1955) Proc. Chubu Branch, Sericul. Soc. Japan., 10, 8
- OHTSUKI, Y & KANDA, T. (1978) Characteristic structure of egg shell in the collapsing egg strain of the silkworm. J. Sericult Sci. Japan 47(3): 215-220
- OMURA, S. (1950) Research on the behaviour and ecological characteristics of the wild silkworm, *B.mandarina*. Bull. Seri. Expt. sta., 13:79-130.
- ONO M. & KATO S. (1968) Studies on the dissolution of peritropic membrane in the silkworm, *Bombyx mori* L. II. On the bacterial enzyme which decomposes peritropic membrane obtained from the culture filtrates of aeromonas. Bull.Sericult. Exp. Sta., 23 (1): 9-34
- OSANAI, M & AIGAKI T (1984) Sex and strain differences in aginase activity of the adult silkworm, *Bombyx mori*. J.Sericult.Sci.Jpn., 53, 519-526.
- PARPIEV, B.A. (1968) Water metabolism in silkworm feed, a strain changing diet. Shelk., 39: 15-17.
- PATIL C.S., JYOTHI N.V & DASS C.M.S (2002) Role of *Nosema bombycis* infected male silkmooths in the venereal transmission of pebrine diet in *Bombyx mori* (Lepidoptera:Bombycidae) J.Appl.Ent. 126,563-566.
- PAUL D.C., SUBBA RAO G & DEB D C (1992) Impact of dietary moisture on nutritional indices and growth of *Bombyx mori* and concomitant larval duration. J. Insect Physiology. 38, 229-235.
- PERIASAMY K (1986) Problems and prospects of sericulture. Lectures on sericulture, Ed.G.Boraiah, Suramya Publications, Bangalore. Pp.98-107.
- PILLAI S V (1979) Growth studies in silkworm, *Bombyx mori* L with special reference to the economic characters. Ph.D Theses, University of Kerala.
- PUTTASWAMY GOWDA (1988) Studies on some Aspects of Egg production in silkworm, *Bombyx mori* L. in tropics. Ph.D Thesis, University of Mysore, Mysore.

- RANGANATHA R., CHANDRAMOHAN N & MANIMEGALAI S (2003) Evaluation of certain botanicals for management of grasserie disease in silkworm, *Bombyx mori* L. National seminar on "Pest management in sericulture, Sericulture college", Chintamani, Karnataka, India.
- REYNOLDS, S.E. (1980) Integration of behaviour and physiology in ecdysis. *Adv.Insect.Physiol.*, 15, 475-595.
- ROCKSTEIN, M. (1974) The physiology of Insecta. Vol 2 Academic press, New York and London.
- ROSS, H.H. (1961) A text of Entomology. 2nd Editing. John Wiley and sons Inc. New York and London.
- SAITO, M (1997) In "New illustrated sericulture reader" Translated and published by Central Silk Board, Bangalore. pp 120.
- SAKAGUCHI, B. (1978) Postembryonic development of the silkworm: In the silkworm: an important laboratory tool. Ed.Y.Tazima, Kodansha Ltd.Tokyo. pp.31-51.
- SAKURAI M., & MATUMOTO T.(1956) On the changes of the specific gravity of the blood in silkworms, *Bombyx mori* L after feeding. *Bull. Fac. Textile Fibers.*, 1(3): 405-412.
- SAMSON, M. V., BAIG, M., SHARMA, S.D., BALAVENKATASUBBAIAH, M., SASIDHARAN, T.O & JOLLY, M.S (1990) Survey on the relative incidence of silkworm diseases in Karnataka, India. *Ind. J.Sericul.* 29, 248-254
- SASHINDRAN NAIR K., KANIKA TRIVEDI, M.RAMESH, NISHA GOPAL, M N MORRISON & NIRMAL KUMAR S (2003) Induction of early and uniform maturation in silkworm, *Bombyx mori* L. with phytoegenous ecdysteroid. In *Advances in tropical Sericulture. Proc. Nat. Con. On topical Sericult. For Global competitiveness.* (5-7 Nov.2003).
- SASHINDRAN NAIR K., MIAO YUN-GEN & NIRMALKUMAR S. (2005) Differential response of silkworm, *Bombyx mori* L to phytoecdysteroid Depending on the time of administration. *J Appl. Sci. Environ. Manage.* 9(3): 81-86
- SASTRI, B.N. (1962) Wealth of India, CSIR, New Delhi. 6, 429-439.
- SATO, T. (1992) Technical report on the silkworm pathology, Bivoltine technology development programme, JICA CSR&TI, Mysore.
- SHIVAKUMAR G.R., HIMANTHARAJ M.T., RAJAN R.K., MAGADUM S.B., & DATTA R.K. (1994) Effect of transportation of bivoltine seed cocoons on melting and egg production. *Ind. Silk* 33(2), 23-24.
- SHIXIAN, L. (1964) Identification on the resistance of silkworm (*B.mori*) races to six types of silkworm diseases. *Sericologia.*, 24, 377-382.
- SHUNLIN L., ZHENLI T & JINMEI Z (1994) In "Silkworm rearing" Bulletin of Sericulture, Hangzhou, China pp 30-33.
- SINGH B.D., BAIG M., BALAVENKATA SUBBAIAH M., SHARMA S.D., SENGUPATA K & SIVARAMI REDDY N (1990) Studies on the relative susceptibility of different breeds of silkworm (*Bombyx mori* L.) to diseases under natural conditions. *Ind.J. Seric.*, 29, 142-144
- SIVARAMI REDDY N., VEMANANDA REDDY G., PAVAN KUMAR T & SASIRA BABU K. (1994) Ecdysing larval mortality in the silkworm, *Bombyx mori* L. under different photoperiodic combinations. In *perspectives in Entomological Research.* Ed. O.P.Agarwal, Scientific Publishers, Jodhpur, 1994. PP.277-283.
- STRUNNIKOV, V.A. (1983) Control of silkworm reproduction, development and sex. MIR publishes, Moscow.
- SUBBU RATHINAM K.M., KABILA V & SULOCHANA CHETTY J (1990) Mineral spray can increase cocoon yield. *Ind.Silk.*, 28(12), 35-36.
- SUGAI E., KOTOKU K & KAGAWA T (1975) The effect of high temperature and airtight environment after pupation on the appearance of early dead eggs in the female silkworm *Bombyx mori* L. *J.Seri.Sci. Jpn.* 44(1), 68-72.
- SUZUKI C., KARASAWA T & KIMURA R (1962) Relation between the occurrence of silkworm disease and the three factors, air current, air composition and temperature. *Nippon Sanshigaku Zasshi.*, 31, 134-138.
- SUZUKI, C. (1957) Effects of injurious gases on the larva and pupa of the silkworm. *Acta.Sericol.Japan.* 20, 91-92.

- SUZUKI, C. (1967) Effects of injurious gases on the larvae and pupa of the silkworm. *Acta. Sericol. Japan.*, 20, 91-92.
- TANADA Y & KAYA H K (1993) Host resistance in "Insect Pathology" Academic press, California.
- TANAKA Y & KE O (1937) Effect of alcohol on the silkworm, *Bombyx mori*. *Shokubutsu Oyobi Dobutsu.*, 5, 35-38.
- TAZIMA, Y (1962) Silkworm egg. Published by Central Silk Board, Bombay.
- TAZIMA, Y (1978) The silkworm: an important laboratory tool. Ed. Y. Tazima, Kodansha Ltd. Tokyo.
- TAZIMA, Y. (1955) Studies on discrimination of females and males of the silkworm in special reference to practical sericulture (A test case for application of artificial translocation of chromosomes to practical industry). Report of the Silk Science Research Institute. 5, P.1-86.
- THANGAVELU K & BANIA H R (1990) Preliminary investigation on the effects of minerals in the rain water on the growth and reproduction of silkworm, *Bombyx mori* L. *Ind. J. Seric.*, 29, 37-43.
- TING-XING Z., YUN-FANGH T., GUANG-XIAN, HUAIZHONG F & BEN M (1994) Mulberry cultivation. FAO Agricultural Services, Bulletin, 3/1, Rome, 1988.
- TURNER Jr. E.C & HAIR J.A. (1966) Effect of temperature on certain life stages of the face fly. *J. Econ. Entomol.*, 59(5): 1275-1276.
- UEDA, S & IIZUKA, H (1962) Studies on the effects of rearing temperature upon the health of silkworm larvae and upon the quality of cocoons. I. Effects of temperature in each instar. *Acta Sericol.* 41, 6-21.
- ULLAL S R & NARASIMHANNA M N (1987) Handbook of Practical Sericulture, Ed. J. Sampath, Central Silk Board, Bangalore. Pp 44-67.
- VAGO, C (1953) Sixth Int. Cong. Microbiol. 5, 556-564.
- VEMANANDA REDDY G., BIRAM SAHEB N M & RAMANJANEYULU Y V (1992) Re-use of non-oviposited moths in commercial seed production centers for increased egg production. *Indian Silk.* 31(5), 40-42
- VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M & KAMBLE C K (2004a) Temperature induced sterility during spinning in silkworm, *Bombyx mori* L. Proc. Nat. Semi. Silkworm seed production. SSTL and NSSO, Bangalore. PP 57-64
- VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M, MANJULA A & KAMBLE C K (2005) Effect of 2 and 3 shoot feed on the performance of seed crop rearing with special reference to egg production and evaluation of egg quality in new breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. The 20th conference of the International sericulture commission (Vol.1) 384-390, CSB, Bangalore
- VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M., & VEERAAIAH T M (2001-02) Influence of environmental factors on the spinning larvae of silkworm, *Bombyx mori* L. Annual Report, SSTL, Central Silk Board, Bangalore. 43-54.
- VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M., MANJULA A & VEERAAIAH T M (2003) Influence of temperature during spinning and its impact on the reproductive performance of silkworm, *Bombyx mori* L. in summer months. Proc. Nat. Semi. Mul. Seri. Res. Ind. KSSRDI, Thallaghattapura, Bangalore. pp 750-754.
- VEMANANDA REDDY G., VENKATACHALAPATHY M., MANJULA A & KAMBLE C K (2004b) Impact of mountages and larval density on cocoon quality and egg production. *Indian Silk*, 43 (6), 14-16
- VENKATACHALAPATHY M., VEMANANDA REDDY G & KAMBLE C K (2004) Role of spinning environment in silkworm, *Bombyx mori* L. – Impact of larval density and mountage effect on cocooning and seed production. Proc. Nat. Semi. Silkworm Seed Production. SSTL and NSSP, Bangalore. PP 51-55
- VENKATACHALAPATHY M., VEMANANDA REDDY G., MANJULA A & KAMBLE C K (2004) Temperature induced sterility in tropical silkworm, *Bombyx mori* L. Proc. The 5th China Int. Silk Conf. Pp. 290-305.
- VENKATACHALAPATHY M., VEMANANDA REDDY G., MANJULA A & KAMBLE C K (2004). Non-spinning in silkworms - causative factors. *Indian Silk* 43(8), 9-10.

- WANG H., ZHANG C., CUN W., LIU X., ZHOU Y., CAI Y & MU Z. (2005) Studies on secretory organs of cocoonase and silkworm vomiting fluid of silkworm, *Bombyx mori*. Acta Sericologica Sinica 31(2), 136-141.
- WATANABE, H. (1964) Temperature effects on the manifestation of susceptibility to peroral infection with cytoplasmic polyhedrosis in the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Seric. Sci. Jpn. 33, 286-291.
- WATANABE T & ARUGA H (1971) The effect of moult on the development of nuclear polyhedrosis in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 40, 37-41.
- WATANABE, H. (1971) Resistance of silkworm to cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm. Eds. Aruga, H and Tanada, Y University of Tokyo press, Japan, pp 169-184
- WATANABE, H., KURIHARA, Y & WANG (1988) J. Invertebr. Pathol. 52, 401-408
- WATANABE, K (1944) Experiments on the rearing of silkworms in August. Sanshi Shikenjo. Hokoku. Tech. Bull., 62: 1-18.
- WIGGLESWORTH, V.B. (1970) Insect hormone. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- WIGGLESWORTH, V.B. (1972) The principles of insect physiology. 7th ed. ELBS. Chapman and Hall, London
- WIGGLESWORTH, V.B. (1965) The principles of insect physiology. Methuen, London
- YAMAMASU, Y. (1937) Effects of garlic vapour for the larvae of *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn. 8, 154-156.
- YAMAZAKI, H., YAMADA T AND KOBAYASHI A (1966) On the infection of flacherie (F) through the scales of silkworm moth and the dust of the room of silkworm egg laying. J. Seric. Sci. Jpn., 35, 161-164.
- YOKOYAMA, T. (1962) Synthesized science of Sericulture, Published in Central Silk Board, Bangalore., p 311.
- YOKOYAMA, T. (1963) Sericulture. Ann. Rev. Entomol., 8: 287-306.
- YOSHIDA T & MIYAUCHI K (1960) On the effect of the choline and its derivatives in mulberry leaves on the silkworm physiology. Bull. Seric. Expt. Stn. Jpn. 16, 58-82.

FACTEURS RESPONSABLES DE LA MORTALITE LARVAIRE ET DES COCONS TACHES ET MESURES PREVENTIVES DANS LA PRODUCTION DE GRAINES DE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L. EN INDE

G. VEMANANDA REDDY , M. VENKATACHALAPAHTY & C. K. KAMBLE

Silkworm Seed Technology Laboratory, Central Silk board, Kodathi, Carmelram Post,
Bangalore – 560 035, Inde.

*La mortalité qui survient chez le ver à soie **Bombyx mori**, assez fréquemment, à différents stades, est principalement due à l'influence de facteurs physiques, physiologiques et biologiques. Dans les conditions indiennes, on estime l'étendue des dégâts provoqués par la mortalité à environ 30-40 % pour l'industrie de la soie. L'influence de différents facteurs environnementaux, des maladies, de la mauvaise adoption des technologies pendant l'élevage entraîne une mortalité chez les vers à soie. Les conditions de température élevée et de faible humidité en été entraînent des désordres physiologiques pendant la conservation des cocons, ce qui par la suite entraîne leur mort. Cela correspond à des cocons tachés, ce qui gêne sérieusement la production d'œufs. En pratique, cela devient difficile pour les éleveurs de graines et les producteurs de graines de maintenir respectivement la qualité des cocons de grainage et des graines, en raison des conditions environnementales changeantes, dans les zones tropicales. Nous présentons une discussion à des niveaux variés sur les causes de la mortalité des vers à soie et nous suggérons des mesures appropriées.*

INTRODUCTION

Depuis quelques temps, les cocons tachés sont devenus un obstacle majeur pour l'industrie de production de graines en Inde, ce qui à son tour a un effet sur la productivité en fil de soie. Cela vaut donc la peine de connaître quelle est la nature de l'obtention de cocons tachés et les raisons pour lesquelles elle survient. Les taches des cocons peuvent s'expliquer par la mort des chrysalides, soit en raison de blessures physiques ou de désordres physiologiques, qui entraînent l'induction de maladies pendant les stades larvaire et nymphal du ver à soie.

On se réfère aussi à ces cocons tachés comme à des cocons muets ou à des cocons morts. Les cocons se tachent en général à cause de l'éruption de la flacherie (maladie bactérienne), de la grasserie (maladie virale) et de la muscardine (maladie fongique) chez les vers à soie. L'infestation uzi (parasite) peut aussi provoquer la mortalité chez les chrysalides, en fonction du stade pendant lequel l'infestation a lieu. L'éruption et la propagation de ces maladies dépendent principalement de la variété de ver à soie, des stades de développement des larves, des blessures physiques, des facteurs environnementaux, physiologiques et nutritionnels y compris de la pratique de techniques d'élevage inappropriées. Bien que l'impact des cocons tachés sur la rentrée de graines et sur la production de soie grège soit très important, il n'existe pas beaucoup d'études sur ces pertes. On observe une différence très importante des taux de mortalité des vers à soie dans les données présentées dans les rapports de différents auteurs en Inde (Jamzson, 1984., Periasamy, 1986, Samson et coll., 1990., Haniffa et coll., 1990., Anananta Siromani et coll. 1994., Das et coll., 1995., Doreswami, 2004., Jhansi Lakshmi et coll., 2005., Manimegalai et Chandrasekharan, 2005., Chandrasekharan et coll., 2006).

L'adaptabilité du ver à soie, *B. mori* aux conditions environnementales est assez différente de celle des insectes sauvages. Depuis des temps immémoriaux, on a domestiqué et procédé au breeding continu des vers à soie, au cours des siècles, pour augmenter la production de soie. Dans l'ensemble, l'intérêt des êtres humains est centré autour de l'exploitation de cet insecte pour la production de soie, la reine des fibres textiles.

Le but de la sériciculture est donc la production d'une grande quantité d'excellents cocons, donnant une soie de bonne qualité. Pour parvenir à cela, en plus de l'amélioration des lignées de vers à soie, il faudrait aussi mettre l'accent sur les méthodes de culture du mûrier, sur la production de graines de vers à soie de qualité, sur l'élevage du ver à soie, sur la montée et le filage corrects des larves et sur la production de cocons de dévidage de qualité. Nous passons en revue et discutons en détail des causes de la mortalité chez les vers à soie et nous proposons des mesures potentielles pour minimiser les pertes, à un degré réalisable, dans la production de cocons et de graines.

FACTEURS RESPONSABLES DE LA MORTALITE LARVAIRE ET DES COCONS TACHES

a) Blessures physiques :

Le ver à soie file sa coque soyeuse autour de son corps comme un bouclier protecteur contre ses ennemis et également pour surmonter les menaces environnementales. Dans la coque, le ver à soie se transforme en chrysalide et plus tard se transforme en papillon. Par la suite, il émerge de la coque soyeuse. Malgré la protection de la coque, on observe souvent que les chrysalides tachent les cocons ou que les cocons meurent.

Le déramage précoce des cocons, c'est-à-dire le 4^{ème} / 5^{ème} jour après la montée pendant le stade pre-nymphal ou le stade nymphal mou pendant les saisons de l'hiver et des pluies et plus tard le transport des cocons abiment les chrysalides. Le transport des cocons bivoltins pour le grainage augmente les taches, de 5 à 25 %, quand la distance augmente de 65 km à 400 km, pendant un voyage de respectivement 2 h et 12 h (Shiva Kumar et coll., 1994). A cause de blessures mécaniques, la peau de la chrysalide se rompt et l'hémolymph se suinte, ce qui à son tour augmente la fréquence de cocons tachés. Des cocons de ce type se tachent après l'infestation bactérienne. Les insectes ont un volume de sang important au moment de l'ecdysis et il diminue après. L'augmentation du volume de sang, qui se produit avant l'ecdysis, se produit largement aux dépens de l'eau dans les cellules et dans l'intestin. Quand le volume de sang baisse en raison d'une petite blessure physique, le ver à soie ne peut pas exercer assez de pression sur la vieille cuticule et il finit par mourir (Carlson et Bently, 1977., Reynolds, 1980). Le maintien d'une pression interne élevée pendant la mue larvaire, l'ecdysis larvo-nymphale ou de la nymphe à l'adulte par l'ingurgitation / l'inhalation d'air entraîne un saignement excessif chez les insectes blessés et ils seront incapables d'émerger. Dans ces cas, la perte de sang est probablement la cause directe de l'échec de l'ecdysis (Jungreis, 1979., Reynolds, 1980). Dans certains cas, le manque de sang dans les papillons peut sérieusement gêner le processus d'expansion des ailes pendant la métamorphose. Iwanami et coll., (1985) ont rapporté que les chrysalides qui saignent dans les cocons, contaminées par l'infestation de bactéries pathogènes comme *Serratia marcescens* ou *Streptococcus faecium* mourront. L'examen bactérien des larves et des chrysalides mortes dans les cocons indique que, chez les chrysalides, les morts dues aux septicémies sont élevées. On isole de nombreuses bactéries de la plupart des exuvies des chrysalides. Cette observation laisse supposer que les bactéries qui adhèrent aux larves sont introduites dans le cocon. Les exuvies sont donc la source de contamination dans le cocon. Dans des conditions de température et d'humidité élevées, les bactéries dans le cocon se répandent facilement, ce qui entraîne la contamination des cocons (Iwanami et coll., 1985).

La séparation des sexes 2 à 3 jours avant l'émergence blesse les chrysalides, ce qui entraîne la septicémie (Anonyme, 1975). Les larves de vers à soie ont une nature à la fois de geo-orientation négative et de photo-orientation positive qui s'adapte pendant le filage, ce qui facilite l'émergence

des papillons. La géo-orientation négative permet que la tête conserve une position vers le haut pour que les papillons réussissent à s'échapper (à émerger) des cocons. Juste après l'ecdysis larvo – nymphale, la cuticule des chrysalides qui viennent d'émerger est très vulnérable et elle sera abîmée par la friction avec les parois du cocon, provoquée par le comportement péristaltique de l'ecdysis, ce qui fait saigner les individus qui, plus tard, meurent (Horie et Shimizu, 1990). Dans la position des chrysalides, tête en bas à l'intérieur des cocons, le poids de l'abdomen entraîne la rupture de la peau tendre de la zone thoracique et la mort (Horie et Shimizu, 1990). Selon Omura (1950), les cocons du ver à soie sauvage, *B. mandarina*, se forment dans des angles variés en fonction des inclinaisons des feuilles de mûrier, mais on constate que les chrysalides se situent la tête en bas dans les cocons pour permettre l'éclosion facile des papillons.

b) Facteurs environnementaux :

Les homéothermes (les animaux à sang chaud) sont capables de maintenir une température corporelle constante par des moyens biologiques variés, pour réaliser les processus métaboliques de manière harmonieuse et rester en vie (Ross, 1961., Wigglesworth, 1965, 1970, 1972, Rockstein, 1974., Hoffman, 1985). Cependant, les poikilothermes (les animaux à sang froid) n'ont pas de mécanismes thermorégulateurs internes de ce type et ils répondent à ces défis par des réponses comportementales (May, 1979., Hoffman, 1985). Donc, l'impact de la température sur ces organismes, en particulier sur les vers à soie domestiqués est plus important. En fait, la préférence de certaines conditions environnementales par un animal est le résultat de l'interaction entre de nombreux paramètres physiologiques et l'adoption de certaines conditions écologiques. L'humidité relative a un effet sur divers paramètres physiologiques chez les insectes et joue aussi un rôle important à la fois sur la survie et sur la reproduction des organismes (Engelmann, 1970). N'importe quel changement de la fourchette optimale, en matière d'humidité relative (70-80 %), a un effet négatif sur différents composants de la reproduction (Puttaswamygowda, 1988). Ceci survient parce que l'humidité ambiante détermine la dynamique des fluides internes des organismes (Engelmann, 1970., Rockstein, 1974). L'environnement joue un rôle dominant dans le maintien en vie des vers à soie. Les facteurs principaux comme la température, l'humidité et l'air entraînent des effets directs et indirects sur les vers à soie et induisent la mortalité (Yokoyama, 1962., Ayuzawa et coll., 1972). Dans les conditions indiennes, les pertes en matière de production de cocons à cause des maladies des vers à soie (mortalité) sont comprises entre 30 et 40 %, par an, (Anantha Siromani et coll., 1994).

Cependant, pendant la dernière décennie, la mise au point de nouvelles technologies et leurs applications systématiques sur le terrain ont conduit à une amélioration progressive de la production de cocons (60-80 kg / 100 pontes saines) en Inde (Vemananda Reddy et coll., 2005 ; Dandin et coll., 2006 et Nirmal Kumar et coll., 2006). Depuis, le ratio de coconnage et le taux de nymphose dépendent en grande partie de la viabilité du stade larvaire ; l'induction de taches sur les cocons commençant, elle aussi, presque dès le stade larvaire (Loases Thakul, 1972). Aucune race de ver à soie n'est complètement immune par rapport aux maladies (Jayaramaiah et Kuberappa, 1978), et les différentes races présentent une variation de leur sensibilité aux différentes maladies (Liu, 1984). Selon Jhansilakshmi et coll., 2005, les bivoltins sont très sensibles à *Beauveria bassiana*, par comparaison aux autres races. Il existe une différence significative de l'incidence des maladies entre les races (Singh et coll., 1990). Benchamin et Krishnaswamy (1981a, 1981b) ont rapporté moins de taches chez les lignées polyvoltines par comparaison aux bivoltines. Leur étude révèle aussi que, parmi les lignées bivoltines, les lignées de race chinoise (ovales) présentent moins de taches que les lignées aux cocons cintrés. On rapporte que les facteurs environnementaux présents pendant le filage induisent directement des taches (Vemananda Reddy et coll., 2004 ; Venkatachalapathy et coll., 2004). La température et l'humidité élevées pendant la période de filage entraînent aussi beaucoup de taches chez les cocons (Ullal et Narasimhanna ; 1987 ; Krishnaswamy, 1986 ; Benchamin et Nagaraj, 1987 ; Vemananda Reddy et coll., 2004 ; Venkatachalapathy et coll., 2004). La température élevée au-dessus de 32° C a une incidence sur le développement des chrysalides et diminue le taux d'émergence des

papillons, ce qui entraîne une mauvaise ponte des œufs par les papillons faibles (Puttaswamy Gowda, 1988 ; Vemananda Reddy et coll., 2003). Ce type de conditions environnementales pendant le filage entraîne aussi certains changements physiologiques, y compris l'altération de l'équilibre hormonal, et induit aussi la formation de semi-nymphes (larves permanentes) à la fois chez les vers à soie polyvoltins (jusqu'à 38 %) et bivoltins (jusqu'à 20 %) (Vemananda Reddy et coll., 2003).

Il a été rapporté que la température optimum pendant la conservation des chrysalides / des cocons de grainage est de 23 -25° C et l'humidité désirable est d'environ 70 % (Anonyme, 1975). Quand la température et l'humidité pendant la conservation des chrysalides sont élevées, le nombre de chrysalides et de papillons infestés par la septicémie, augmente de manière proportionnelle (Iwanami et coll., 1985). Une température supérieure à 30° C ou inférieure à 20° C entraîne la diminution de la fécondité et l'augmentation des œufs non fécondés (Yokoyama, 1962 ; Anonyme, 1975). L'humidité relative joue un rôle crucial dans le rythme d'émergence chez les vers à soie adultes, qui commence à environ 6 heures du matin et coïncide en général avec les périodes d'humidité environnementale élevée, ce qui limite donc la perte d'eau corporelle, pour permettre aux papillons d'émerger de manière simultanée (Hinton, 1981).

Quand l'humidité est faible (35-45 %), le développement nymphal sera lent (Puttaswamy Gowda, 1988). Le pourcentage d'émergence baisse et le nombre de papillons qui n'arrive pas à s'accoupler augmente aussi. S'il fait sec, pendant les derniers stades de conservation des cocons de grainage (stade nymphal le plus avancé), l'effet sera grave. Puisque la perte de poids (perte d'eau) pendant le stade nymphal est d'environ 1 à 2 % chez les femelles et de 1,5 à 2,5 % chez les mâles par jour, dans des conditions de température ambiante normales (données non publiées), il semble que les chrysalides les plus âgées puissent subir un stress de dessiccation. Dans de telles circonstances, la plupart des activités histogéniques (nouvelle formation d'organe) souffriront et cela aura pour conséquence soit la mort du pré-adulte (à l'intérieur de la peau de la chrysalide) ou du papillon adulte, après être sorti de la peau de la chrysalide. Ainsi, avec des conditions de température élevée et de faible humidité, le taux d'émergence des papillons baisse considérablement et on constate aussi la présence d'œufs qui s'effondrent, c'est-à-dire que les œufs s'effondrent immédiatement après la ponte et meurent (Sugai et coll., 1975 ; Ohtsuki et Kanda, 1978).

Différents auteurs ont rapporté une baisse de l'émergence des papillons en fonction de la température et de l'humidité (Tazima, 1962., Turner et Hair, 1966., Ayuzawa et coll., 1972). Selon Kovalev (1970), le déclin (la mortalité) est lié à la faiblesse physiologique des papillons. Tandis que cela est vrai comme remarque générale, les mécanismes réels impliqués dans cette « faiblesse physiologique », n'ont pas encore été explorés en détail. Les effets combinés de la température et de l'humidité, comme la température élevée et la faible humidité, la faible température et l'humidité élevée et la faible humidité et la faible température sur la création de taches sur les cocons sont différents et ils entraînent des différences significatives d'émergence des papillons, chez les lignées de vers à soie populaires indiennes, PM, HM, NB7, NB4D2 et NB18. On attribue cela aux différentes architectures génomiques, qui sont façonnées par des conditions environnementales variées, qui constituent les composantes des sélections (Puttaswamy Gowda, 1988).

Manjula (1992) a rapporté que les facteurs environnementaux dans différentes zones agroclimatiques ont un impact plus important sur le rendement en cocons et sur la production d'œufs de vers à soie. Si la température et l'humidité relative requises ne sont pas présentes pendant la période d'incubation des œufs de vers à soie, de l'élevage des vers à soie, du filage, de la transformation et de la conservation des cocons, cela pourrait entraîner une augmentation du nombre de cocons tachés et morts. Le nombre de cocons tachés est compris entre 5,75 et 20,76 % chez NB7, 8,27 à 25,27 % chez KA ; 4,91 à 39,72 % chez NB4D2 et 0,17 à 30,34 % chez NB18.

Pendant le développement nymphal, quand les yeux composés se colorent, le taux de respiration augmente progressivement avec une libération de quantités importantes de dioxyde de carbone (CO₂). Pendant cette période, la ventilation est nécessaire pour éviter l'effet toxique du CO₂ sur les chrysalides en développement et pour minimiser la mortalité (Horie et coll., 1976). La conservation

des cocons de grainage, sans aération correcte, particulièrement pendant la maturation des œufs, chez les chrysalides du dernier âge, entraîne une mortalité des œufs ainsi que l'augmentation de la mortalité nymphale (Sugai et coll., 1975).

Pendant la partie humide de l'été, bien que les facteurs pour la croissance du ver à soie soient bons, il y a cependant une mortalité élevée des larves et des chrysalides du 5^{ème} âge. Cela est probablement dû à la teneur élevée en eau des feuilles de mûrier et à la faible transpiration du corps de la larve (Krishnaswami et coll., 1970., Paul et coll., 1992). Le pourcentage de vers à soie au coconnage réussi et qui se transforment en chrysalides est toujours élevé avec des conditions d'élevage optimales, ou presque optimales des vers à soie en croissance. N'importe quelle température constante pendant l'élevage et le filage, dans la fourchette de 23 à 28° C, permettra aussi un taux de nymphose plus important (Vemananda Reddy et coll., 2001-02). Les conditions d'élevage à température élevée (27 - 32° C) et en humidité élevée (86 à 96 %) sont favorables à la croissance larvaire rapide, mais entraînent une mortalité larvaire élevée et un faible taux de nymphose (Paul et coll., 1992). Pendant la saison des pluies, particulièrement pendant les jours de pluies importantes, les feuilles de mûrier deviennent de qualité inférieure et ont une grande influence sur la formation de cocons tachés (Hasegawa et Hayasaka, 1985., Shunlin et coll., 1994). L'alimentation de vers à soie bivoltins avec différentes variétés de mûrier a confirmé cela et on a pu observer beaucoup de cocons tachés, pendant la saison des pluies (Giridihar et coll., 1990).

c) Différences sexuelles :

Les femelles sont plus vulnérables aux fluctuations de température et aux conditions d'humidité et plus sensibles aux différentes maladies et souffrent plus que les mâles. Génétiquement aussi les femelles sont plus faibles que les mâles, puisque les chromosomes « W » ne portent pas de gènes dans le cas des femelles (Tazima, 1955., Strunnikov, 1983). Elles sont donc faibles, en raison du manque de protection génétique, par rapport aux maladies. Ceci est clair d'après le fait que le ratio femelles ; mâles escompté est de 1 : 1, en fait le ratio femelle au stade nymphal est inférieur à celui des mâles, quelles que soient la saison et les lignées (Tazima, 1955).

d) Photopériode :

L'étude réalisée par Sivarami Reddy et coll., (1994) a révélé que les conditions de photopériode de jour long induisent une lourde mortalité larvaire par comparaison aux conditions de jours courts, pendant l'ecdysis larvaire. La mortalité larvaire est beaucoup moins importante pendant les périodes de mue larvaire précoce, que pendant les mues tardives. On observe une mortalité larvaire élevée pendant la quatrième ecdysis larvaire.

e) Désordres physiologiques et santé du ver à soie :

Pendant les stades pre-nymphal et nymphal, le métabolisme est très actif. Pendant ces stades, la formation de nouveaux organes et la dégénérescence des anciens a lieu à un rythme beaucoup plus rapide, en raison de l'histogenèse et de l'histolyse. Pendant ce métabolisme actif (processus de métamorphose), les nymphes apparaissent à l'état de repos. Mais sur le plan physiologique, c'est un stade très actif, pendant lequel le système reproductif achève son développement structural et fonctionnel. Pour la production de graines, les principaux événements physiologiques comme la spermatogenèse et l'ovogenèse sont très importants. Comme ces deux événements physiologiques sont sensibles à la température, la première étape dans tous les centres de grainage devrait être de protéger les cocons de grainage de conditions environnementales fluctuantes, de manière à éviter les dégâts pour les chrysalides et à maintenir le potentiel reproductif des papillons ayant émergé (Vemananda Reddy et coll., 2004).

Le taux de production de dioxyde de carbone est compris entre 20 à 50 μ moles par gramme de poids corporel / h pendant le stade larvaire. Du début du filage jusqu'avant le début de l'ecdysis nymphale - adulte, le taux de production de CO₂ / d'absorption d'O₂ forme une courbe en forme d'U,

puis il augmente rapidement, juste après l'émergence (Horie et coll., 1976). La production de CO_2 pendant un jour au stade adulte est de 1,95 m mole par individu chez les mâles et de 0,59 m moles / papillon chez les femelles. L'âge auquel la respiration est la plus faible, pourrait correspondre au tournant du métabolisme, c'est-à-dire le passage de l'histolyse à l'histogénèse. Avant ce tournant, le taux d'absorption d' O_2 par unité de poids est plus important chez les mâles que chez les femelles, mais il diminue par la suite (Anonyme, 1975).

Au moment de l'émergence, les papillons libèrent par la bouche un fluide alcalin contenant l'enzyme de la coconnase. Ainsi, le papillon mouille la coque soyeuse avec le fluide alcalin et perce la coque soyeuse, de manière à émerger. Ce fluide d'émergence est une substance indispensable pour la vie du papillon (Wang et coll., 2005). Dans le cas où la quantité de fluide d'émergence est beaucoup moins importante, en raison de conditions de sécheresse, le papillon ne peut pas sortir du cocon et il finit par mourir à l'intérieur de la coque (Kafatos et William, 1964., Puttaswamy Gowda, 1988).

La température joue un rôle clé dans la détermination du taux de développement, de la mortalité, de la fécondité et de la mue chez le ver à soie (Tazima, 1978). La température élevée (30°C) entraîne l'allongement des parties intérieures des ovaires, qui contiennent 14,5 à 15 % d'œufs dégénérés et la fluctuation de la température, entraîne la diminution de l'émergence des papillons en raison d'une faiblesse physiologique des papillons (Kovalev, 1970). Certains désordres physiologiques, à la suite d'une infestation virale, bactérienne, ou d'infestation par la pébrine, rendent les femelles incapables de pondre des œufs (Vemananda Reddy et coll., 1992 ; Patil et coll., 2002).

f) Pathogènes :

Jusqu'à présent, il n'existe pas de preuve que l'itinéraire de l'infestation chez les insectes terrestres, y compris chez le ver à soie, par des virus / des bactéries se produise par le tégument et le stigmate respiratoire. La plupart de ces infestations par les pathogènes se produit *per os* et d'autres par les œufs (Watanabe, 1964, 1971, 1988 ; Govindan et coll., 1998).

Le pouvoir de stérilisation d'une cellule hypodermique infestée avant la formation des polyèdres est capable de former une cuticule pendant la mue. D'autre part, une cellule hypodermique qui contient des polyèdres, n'est pas capable de former une nouvelle cuticule et la larve ne peut pas subir d'ecdysis, en raison de l'incapacité des cellules hypodermiques à former une nouvelle cuticule et elle meurt (Watanabe et Aruga, 1971). L'infectiosité et la pathogénicité de *Nosema bombycis* sont très importantes chez le ver à soie et elles augmentent la mortalité larvaire et le nombre de chrysalides tachées (Fuziwara, 1980). Matsubara et Hayashiya (1969) pensent que l'une des causes de l'augmentation de la sensibilité, est l'absence de substance antivirale dans le liquide digestif des larves, quand on les élève sur du milieu artificiel et sur une feuille de qualité inférieure produite pendant l'automne. Dans les échantillons d'urine de larves saines élevées en laboratoire, on détecte des bactéries, mais il est rare qu'il y ait un compte élevé en bactéries (Kumararaj, 1969). Les échantillons regroupés d'urine de larves atteintes par la flacherie, présentent toujours un compte élevé en bactéries. Quand cette urine, contaminée par des bactéries, tombe sur d'autres larves / cocons sains, pendant la formation des cocons, la propagation de la flacherie sera rapide et cela pourrait augmenter le nombre de cocons tachés / la mortalité, particulièrement pendant la saison des pluies, pendant laquelle chaque larve sécrète approximativement 0,4 ml d'urine (Anonyme, 1975 ; Horie et coll., 1976).

Parmi les maladies du ver à soie, la grasserie provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* (BmNPV) est la principale (soit 30 à 40 %) des maladies. En plus de provoquer la mortalité larvaire, la grasserie est également responsable de la mortalité post cocon (formation de taches) (42,3 %). La muscardine, l'uzi et la flacherie représentent respectivement 20,3 % ; 17 % et 20,1 % de mortalité des cocons (Chandrasekharan et coll., 2006).

Dans les larves, le liquide digestif s'affaiblit quand le pH est < 9 et les bactéries avalées avec les feuilles de mûrier croissent dans les organes digestifs (Periasamy, 1986). Les bactéries absorbent les nutriments du corps du ver à soie et détruisent la membrane péritrophique et le tissu membranaire de

l'intestin et entraînent la flacherie (Ono et Kato, 1968). Chigasaki (1937) a considéré que la flacherie est une maladie sub-chronique, provoquée par un désordre physiologique primaire et une infestation secondaire par les bactéries. Le désordre physiologique est principalement provoqué par une température et une humidité incorrectes (Matsumura, 1928 ; Matsumura et coll., 1928), par l'air contaminé (Suzuki, 1957) par les écailles des papillons (Yamazaki et coll., 1966), par la nutrition insuffisante à partir de feuilles de mûrier (Watanabe, 1944) ou par la mauvaise manutention des œufs (Kutsukake, ; 1944). La mortalité larvaire, provoquée par les maladies, augmente avec une famine prolongée (Samson et coll., 1966). La feuille contaminée par le virus répand aussi les pathogènes du terrain à la magnanerie, ce qui contribue à l'épizootie (Inoue et coll., 1974., Watanabe et coll., 1988., Gogindan et coll., 1998). Vago (1953) a constaté que l'alimentation des vers à soie avec certaines variétés de mûrier augmente l'incidence des maladies virales, ce qui entraîne la mortalité. Au Japon, l'incidence de la polyédrose cytoplasmique, chez le ver à soie, est très faible au printemps, mais elle augmente en automne (Oba, 1955, Aruga, 1958). L'incidence élevée de polyédrose cytoplasmique, en automne, semble être associée à la qualité des feuilles de mûrier (Aruga, 1958). Ebihara (1966) a apparemment prouvé cela après des expériences sur milieu artificiel.

Selon Sujuki et coll., (1962) un niveau de 0,5 % de CO₂, même pendant 2 heures, entraîne l'éruption de flacherie. Alors que le niveau de CO₂ continue à augmenter de 0,5 à 1 % avec moins de courant d'air, c'est à dire 2- 4 cm / sec., cela entraîne 40 à 60 % de flacherie. De plus, il a envisagé que l'on pourrait lutter contre cette maladie en se débarrassant des gaz toxiques, tels que le CO₂ et le NH₃ (ammonium), qui émanent des vers à soie et des litières (Yokoyama, 1963).

Les vers à soie morts libèrent des gaz d'acide organique, c'est-à-dire du gaz indole, du gaz d'acide propionique, du gaz d'acide iso-valérique et du gaz d'acide n-butyrique, qui provoquent des désordres physiologiques chez le ver à soie. La flacherie infectieuse augmente avec le gaz de l'acide propionique et la polyédrose nucléaire avec le gaz de l'acide iso-valérique (Nunome et coll., 1971).

La relation entre les concentrations de CO₂ dans la pièce d'élevage et la mortalité des vers à soie est linéaire (Sujuki et coll., 1962, Yokoyama, 1963). Un niveau de CO₂ élevé diminue le pH du sang et induit une faiblesse, ce qui entraîne plus de mortalité larvaire (Yokoyama, 1962, Kusunoki et Watanabe, 1982). Même l'infestation des vers à soie, par *Beauveria bassiana*, au 5^{ème} âge, provoque des changements de la valeur de pH du sang (c'est-à-dire de 6,5 à 6,22 le 4^{ème} jour du 5^{ème} âge) (Kusunoki et Watanabe, 1982). En consommant des feuilles avec une teneur élevée en eau (76 %), le poids spécifique du sang de la larve baisse de 1,036 à 1,022 et perd son activité tampon, et la mortalité larvaire et nymphale augmente (Sakurai et Matumoto, 1956 ; Kusunoki et Watanabe, 1982).

g) Qualité de la feuille :

Quelle que soit la qualité de la lignée de ver à soie, malgré les soins pris, la maladie fait beaucoup de victimes à moins que la qualité de la feuille soit de nature supérieure.

Le manque de soleil pourrait diminuer la qualité de la feuille, avec la baisse des protéines et des hydrates de carbone et l'augmentation du nitrate « N » non protéiné. La teneur élevée en nitrate « N », dans les feuilles, pourrait entraîner des maladies et une mortalité larvaire du ver à soie (Shunlin et coll., 1994).

Le manque de phosphore dans le sol diminue la teneur de la feuille en saccharose, en sucres réducteurs et en « Ca » et augmente la teneur totale en « N » non protéiné, ce qui diminue la qualité des feuilles de mûrier. On constate que des maladies du ver à soie sont induites par l'alimentation avec ce type de feuilles (Shunlin et coll., 1994 ; Kurose, 1964).

On a confirmé que les vers à soie élevés sur des feuilles de mûrier déficientes en phosphore ne peuvent pas achever leur stade larvaire et meurent, avant d'avoir filé leurs cocons (Kurose, 1964). S'il y a une carence ou un excès d'azote, le taux de nymphose diminue (Ting – Xing et coll., 1994).

L'alimentation des larves avec des feuilles immatures, contenant une teneur élevée en eau et de faibles niveaux en hydrates de carbone, en lipides, en protéines, en fibres et en minéraux (faible teneur

en cendres) a un effet sur la santé des larves et entraîne une mortalité larvaire et nymphale (Anonyme, 1975., Shunlin et coll., 1994., Anitheswari et coll., 2005).

La mortalité provoquée par la flacherie bactérienne est très significative chez les vers du 5^{ème} âge, nourris avec les feuilles tendres de neuf variétés de mûrier, tandis que la mortalité est inférieure quand on les alimente avec des feuilles matures (Periasamy, 1986). Cela est confirmé par les changements physiologiques de base qui se produisent dans les larves, puisqu'une teneur élevée en cendres des feuilles matures contribue à augmenter l'alcalinité physiologique de la nourriture avec un pH du liquide digestif de 9,5 à 10,2 et la teneur en cendres des feuilles tendres diminue le pH du liquide digestif de 8,22 à 7,8 et d'où la sensibilité à la maladie (Periasamy, 1986).

Les jours de pluies importantes, la plupart des minéraux essentiels tels que le Ca, le Mg et le K sont élués par l'eau de pluie de la feuille / du plant de mûrier (Hasegawa et Hayasaka, 1985) dans le sol. L'alimentation avec une feuille de ce type, de qualité inférieure, a une incidence sur la santé de la larve et cela répand donc les maladies. On constate que la variation saisonnière du taux d'acide ascorbique est significative et il est moins important en mars – juillet. On enregistre une teneur élevée pendant les mois de novembre, décembre, et janvier (Chakrabarthi et Singhal, 1996). Les larves femelles sont plus sensibles aux déséquilibres en acides aminés, dans l'alimentation, que les mâles (Horie et coll., 1970).

Quand la vitesse moyenne du vent passe à 10 m / s, les branches de mûrier commencent à bouger. Quand la vitesse du vent dépasse 20 m / s, les feuilles sur les branches se cassent. Ces dégâts sur les feuilles et sur les branches entraînent une perte d'humidité de 20 à 30 %. Des feuilles de ce type sèches et abîmées sont dures et épaisses, à cause des précipitations moins importantes, et contiennent moins de protéines et plus de cellulose. Le ver à soie qui se nourrit sur des feuilles de ce type devient plus faible, se développe de manière inégale, ce qui entraîne une durée larvaire plus longue et un mauvais rendement en cocons, associés à une mortalité élevée (Saito, 1997).

h) Substances chimiques :

Kuwana et coll., (1968) ont réalisé plusieurs expériences et fait plusieurs observations sur la relation entre la concentration en substances chimiques et le mode d'apparition des symptômes d'empoisonnement et de la mortalité. L'effet d'empoisonnement des substances chimiques induit généralement des vomissements, des rétrécissements des larves et elles finissent par mourir. Selon Watanabe (1971), les doses sub-léthales de certains insecticides augmentent aussi la sensibilité du ver à soie à l'infestation par le virus. Des facteurs de stress différents, tels que les températures faible et élevée, l'H₂O₂, la formaline, l'EDTA, (l'éthylène diamine tétra acétique), l'acide acétique, l'éther, sont efficaces pour induire des maladies virales chez les vers à soie (Aruga, 1963). La vapeur d'ail provoque aussi l'absence de filage et la mortalité des vers à soie (Yamamasu, 1937 ; Venkatachalapathy et coll., 2004).

L'alimentation avec des feuilles de mûrier recouvertes de composants organomercuriques, comme le phosphate d'éthyl mercurique (EMP), le chlorure d'éthyle mercurique (EMS) et le chlorure de méthyle mercurique (MMC), entre 8 à 60 ppm, chez des larves du 5^{ème} âge entraîne la mort des chrysalides ainsi que des œufs. La mortalité nymphale est comprise entre 25 et 100 % en fonction de la quantité des composants sur les feuilles (Kuribayashi, 1982). De plus, il a été prouvé que la relation entre le stade auquel l'EMP est administré et la capacité d'éclosion des œufs pondus par la suite, montre que le stade pré-nymphal est très sensible et la substance chimique qui rentre dans les œufs diminue la capacité d'éclosion (Kuribayashi, 1982).

L'utilisation de concentrations inefficaces, plus faibles que la quantité recommandée et insuffisante de désinfectants, pendant l'élevage, pourrait entraîner l'éruption de maladies et la mauvaise santé des larves particulièrement des vers à soie du 4^{ème} et du 5^{ème} âges.

SUGGESTIONS POUR L'AMELIORATION DU TAUX DE NYMPHOSE CHEZ LES COCONS DE GRAINAGE

Les technologies intégrées pratiques de gestion des maladies du ver à soie (ISDMT) ont entraîné une stabilisation des récoltes de vers à soie et préviennent les maladies, et la Gestion Intégrée des Nutriments (INM) améliore considérablement la qualité et la quantité de feuilles, ce qui contribue à des rendements plus élevés en cocons.

La manutention correcte des œufs est une condition nécessaire pour une éclosion réussie et pour le succès des récoltes de vers à soie.

a) Général :

1. Nourrir les larves avec des feuilles de bonne qualité et en bonne quantité ayant les substances anti-microbiennes requises, comme les terpénoides, les phénols et les flavonoïdes (Tanada et Kayo, 1993), pour maintenir la santé de la larve dans de meilleures conditions, pendant toute la durée de l'élevage (Vemananda Reddy et coll., 2005).

2. Avec le système d'alimentation par les branches, 2 repas sont supérieurs à 3 repas pour les récoltes de grainage, puisqu'ils améliorent la santé des larves et augmentent les taux effectifs d'élevage (ERR) et de nymphose, dans les conditions d'élevage habituelles (Vemananda Reddy et coll., 2005).

3. Maintenir le microenvironnement pendant l'élevage contribue au développement de larves résistantes à la maladie.

4. Pour diminuer la mortalité et pour améliorer les conditions de santé du lot, il faudrait procéder à l'élevage larvaire dans des conditions sans germes et sans parasites.

5. Avec un espace uniforme de litière de $0,54 \text{ m}^2$, une population de 300 vers présente de bons résultats au printemps tandis qu'une population de 200 vers se comporte bien en été et en automne, par comparaison à 100, 400 et 500 vers (Dar et Singh, 1991).

6. Les études réalisées sur l'effet de différents espacements des plants de mûrier sur la performance d'élevage indiquent un faible pourcentage de cocons tachés avec un espacement des parcelles de mûrier de $45 \text{ cm} \times 45 \text{ cm}$ et de $0,9 \text{ m} \times 0,9 \text{ m}$. Mais la performance d'élevage de la parcelle de $45 \times 15 \text{ cm}$ (système de rangees), montre qu'il y a beaucoup de cocons tachés pendant les 6 premiers jours du filage (Pillai, 1979).

7. Monter le nombre nécessaire de larves matures (bivoltins – 50 larves / $30,5 \text{ cm}^2$ et polyvoltins – 60 larves / $30,5 \text{ cm}^2$) sur les encabanages, pour éviter la surpopulation et la contamination bactérienne, pendant l'étape du filage, pour obtenir des cocons de qualité et un meilleur taux de nymphose (Vemananda Reddy et coll., 2004).

8. Il faut faire encore plus attention à la montée et au contrôle de la température ($23-25^\circ \text{C}$), l'HR ($65-75\%$), à la ventilation ($0,5$ à 1 m/sec) et à la lumière modérée, qui sont essentiels pour produire des cocons sains (Yokoyama, 1962). Il faut déramer les cocons de grainage le 6^{ème} ou le 7^{ème} jour après la montée des larves, pour éviter les blessures physiques.

9. Transporter les cocons dans des cageots en plastique ou dans des paniers en bambou bien ventilés de manière à les protéger de dégâts physiques et de blessures physiologiques. Le transport sur de longues distances a des effets sur la maturation des œufs et du sperme (ovogenèse et spermatogenèse), sur les activités physiologiques majeures, qui sont sensibles à la température et par la suite, cela aura un effet sur la performance de la génération suivante.

10. L'utilisation du supplément alimentaire « SERIFEED » une fois par jour à raison de $1 \text{ g} / 30,5 \text{ cm}^2$ pendant le dernier âge des vers à soie, augmente l'ERR de 4 % (Narayanaswamy et coll., 2005).

11. Quand on vaporise l'extrait de feuille de *Tridax procumbens* à 0,4 %, à raison de 30 ml pour un lot de 100 larves, on enregistre une mortalité larvaire de 9,58 % pendant le dernier âge larvaire, par rapport à 12,15 % chez le témoin (Murugesh et coll., 2005).

12. L'ajout sur les feuilles de l'extrait aqueux de *P. coryleifolia* et de *P. ambionicus*, à 800 ppm, le 1^{er} jour du 3^{ème} âge, diminue considérablement la mortalité larvaire, provoquée par la grasserie (Ranganatha et coll., (2003).

b) Saison des pluies :

1. Faire baisser l'humidité les jours de pluie au niveau requis (70 à 75 %) pour les vers à soie en particulier pendant les derniers stades, en conservant de la chaux fraîche (25 kg / 100 pontes saines) dans la pièce d'élevage (25° C). On peut aussi saupoudrer de la chaux sur la litière de pousses, 30 minutes avant l'alimentation, particulièrement pendant le nourrissage du soir au cours du dernier âge, pour contrôler l'humidité de la litière et aussi les maladies. Quand la température est faible (20 à 22 ° C), on peut utiliser un radiateur électrique pour augmenter la température jusqu'à 25° C.

2. Ne nourrir les larves qu'avec la quantité nécessaire de feuilles, surtout pendant les jours de pluie, pour contrôler / diminuer l'humidité de la litière.

3. Nourrir les larves du 5^{ème} âge avec une feuille épaisse, qui est riche en vitamine C pour améliorer la résistance des larves aux maladies (Gamo, 1941., Ito, 1961a, b., Murthy, 1953., Chakrabarti et Singhal, 1996). On peut obtenir des feuilles uniformément mures, dont le ver à soie du dernier âge a besoin, en coupant les branches de mûrier du sommet (Kasiviswanath et coll., 1981).

4. On peut conserver les feuilles dans une pièce séparée pour éviter l'augmentation supplémentaire de l'humidité relative dans la pièce d'élevage, en particulier pendant les jours de pluie.

5. Ajuster l'irrigation de la muraie, en fonction des précipitations, et récolter les feuilles au moment approprié pendant les jours de pluie.

6. Dans le cas de l'alimentation par les pousses, pour diminuer la propagation des maladies, appliquer 6 kg de désinfectant de litière d'après les recommandations.

c) Saison d'hiver:

1. Augmenter la température avec des radiateurs électriques ou avec un poêle à charbon, ce qui peut augmenter la capacité de digestion et les conditions de santé des larves. La température élevée (25° C) pourrait aussi lutter contre la croissance fongique. Pendant le filage, la température élevée (25° C) permet aussi le filage correct des cocons avec un taux de nymphose élevé.

2. De nombreux vers à soie qui ne filent pas apparaissent pendant l'élevage de masse et les fermiers subissent occasionnellement de grandes pertes financières pendant les saisons d'hiver et de froid. On considère que les nouveaux résultats sur l'induction du filage avec l'ecdysone représentent une découverte importante, qui peut accélérer le filage par la maturation précoce et la production précoce de cocons (Akai et coll., 1988 ; Sasindran Nair et coll., 2003 & 2005).

d) Saison d'été :

1. La gestion de l'élevage des vers à soies en été est une tâche difficile pour un fermier en raison de nombreux facteurs, comme la nature poikilothermique du ver à soie, la température ambiante élevée (30 - 40° C), la faible humidité (30 - 60 %) (situation de sécheresse), la détérioration de la qualité des feuilles à un rythme plus rapide après la récolte, la mauvaise santé des larves et la fréquence de maladies bactériennes et virales, qui entraînent une mortalité élevée des larves et des nymphes.

2. L'irrigation correcte de la muraie est nécessaire pour récolter une feuille de qualité, qui peut satisfaire les larves affamées.

3. Toujours nourrir les larves avec des feuilles fraîches.

4. Il est essentiel d'accorder de l'attention à la conservation des feuilles. Autrement, la feuille perd sa teneur en eau ainsi que les vitamines essentielles comme les vitamines du complexe B et la vitamine C, qui sont activement utilisées pour la respiration de la feuille. De cette manière, la qualité de la feuille se détériore et devient inapte à l'alimentation larvaire et cela entraîne une mauvaise croissance. La plupart du temps, les larves rampent donc à cause de la faim, à cause de l'alimentation avec des feuilles dures et sèches et deviennent faibles pour résister à des maladies variées, ce qui

entraîne de mauvaises récoltes de vers à soie, avec un taux de mortalité élevée chez les larves et les nymphes.

Pour surmonter le problème de la mortalité larvaire et des cocons tachés, de nombreux travaux de recherche ont été entrepris pour mettre au point un ensemble adapté de pratiques pour le mûrier (INM) et de techniques d'élevage du ver à soie pour une meilleure gestion. Cela restera toujours un problème, pour la sériciculture tropicale, à moins d'utiliser des variétés de mûrier et de ver à soie adaptées.

Pour obtenir de meilleures récoltes, des études supplémentaires sont nécessaires dans les directions suivantes :

1. Mise au point de l'INM pour cultiver un mûrier de qualité.
2. Mise au point de lignées de vers à soie résistantes.
3. Techniques de détection précoce des maladies, pour protéger les vers à soie.
4. Mise au point de techniques d'élevage adaptées, comme des méthodes de fortification des feuilles, l'utilisation de désinfectants de qualité et le maintien d'activités hygiéniques.

GENETICS OF INDUCIBLE ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN LARVAL HEMOLYMPH OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

EIJI OKADA^{1*}, KOUKICHI NAGASAKA² & KEISUKE MASE¹

1. Silk Technology Unit, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-10-1 Agata, Matsumoto, Nagano 390-0812, Japan.
2. Research Project Team 4 for Chemical Pesticide Minimization in Vegetable Crops, National Agricultural Research Center for Western Region, 200 Uenocho-Ueno, Ayabe, Kyoto 623-0035, Japan.

*Investigating humoral antibacterial activity induced in hemolymph through bacterial vaccination, we conducted a genetic analysis of the activity by collecting the hemolymph periodically from the silkworm larvae (*Bombyx mori* L.) and further, we bred F₁ and BF₁ generations from strong (Daizo) and weak (Oha) races for the examination of the diffusion method of inhibition zone assay against *Escherichia coli*. The highest value of the activity appeared at the same time, about 24 hours after the vaccination in both Daizo and Oha races. The activity was estimated by the approximation of area of the inhibition zone. The average for Oha and Daizo were 0.36 and 0.79cm²/10μl, respectively. The activity in the F₁ generation was 0.62-0.64cm²/10μl. There was no significant difference found between reciprocal crosses. In the BF₁ generation, segregation into different activity levels was not suggested and the analysis showed intermediate activity levels between the recurrent and F₁ parent. These results suggested that there are some minor genes concerning antibacterial activity induced in hemolymph of silkworm larvae.*

Keywords: Silkworm, Inducible antibacterial activity, Incomplete dominance, Inhibition zone assay, Interracial difference

INTRODUCTION

The interracial differences in silkworm larvae concerning resistance to viral diseases such as nucleopolyhedrosis (Aratake, 1973), denisonucleosis (Seki, 1985) and cytoplasmic polyhedrosis (Watanabe, 1966) have been reported, as well as their susceptibility to the germicide, Maneb (Yamamoto and Fujimori, 1986). In response to an infection by an insect pathogenic bacteria, antibacterial activity is induced in the hemolymph of the silkworm 24 hours after a bacterial vaccination, it is also confirmed that there are interracial differences in the response activity (Okada *et al.*, 1997). It was considered necessary to compare the interracial differences of pathogen resistance among silkworms pathologically, physiologically and genetically. In addition, we think that the results of these findings will offer wide applications for raising a breed of healthier silkworm.

In this report, paying attention to the humoral antibacterial activity induced in silkworm hemolymph by injection with a bacterial vaccine, we collected the hemolymph periodically after vaccination and used it to determine the level of antibacterial activity in order to investigate the cause of the different levels of protection between silkworm races. To examine the contribution of genetics as a component of the antibacterial activities, we bred F₁ and BF₁ generations from both strong and

* To whom correspondence should be addressed. Fax: +81-263-36-5192. E-mail: okada@nias.affrc.go.jp

weak races. These results showed us that the induction period for the antibacterial activity differed little between the races and the genetic character of the activity was incomplete dominance. Moreover, several proteins involved in the intensity of the antibacterial activity were detected by Tricine-SDS-PAGE.

MATERIALS AND METHODS

Insects:

Two strains of silkworm, *Bombyx mori* L., were prepared. One strain Oha was obtained from the Laboratory of Insect Genetics at our institute. The other Daizo has been maintained in our laboratory for more than 12 generations. Our previous report revealed that the former displays weakness in the inducible antibacterial activity, while the latter shows stronger activity (Okada *et al.*, 1997). The two strains were crossed reciprocally to produce the F₁ generations. The BF₁ generations were obtained by crossing females of F₁ (Oha×Daizo) with males of Oha or Daizo. All of the larvae were reared on mulberry leaves according to the usual methods of sericulture. 5th instar larvae kept at 25° C were used in all experiments.

Bacteria:

The test organism used as our standard assay for antibacterial activity was *Escherichia coli* JM101 which was maintained in our laboratory. These bacteria were also used for making the vaccine.

Immunization of larvae and preparation of hemolymph:

E. coli JM101 was used to create the vaccine. The organism was grown in LB broth medium at 37°C for more than 8 hours. Then the cells were collected by centrifugation, washed and resuspended twice in a 0.9% saline solution. The suspension was autoclaved at 121° C for 15 min. The final suspension was then adjusted to a concentration of 5×10^7 cells/ml. Fifth instar 3-day larvae were anesthetized in ice water and then immunized by injecting 20 µl of the *E. coli* suspension containing 10^6 cells into the first abdominal leg using a syringe. The hemolymph was later collected by cutting off the abdominal legs and the drops of hemolymph were taken up in an ice-cooled tube containing a few crystals of phenylthiourea. Hemocytes and debris were removed by centrifuging at 1000 rpm for 10 min, next, at 12000 rpm for 5 min. The hemolymph samples were stored at -80° C.

Assay of antibacterial activity:

Antibacterial activity was measured using the diffusion method of inhibition zone assay. We recorded the diameters of the zones of growth inhibition on thin agar plates with fresh *E. coli* where the hemolymph samples were added in wells (Faye and Wyatt, 1980). The plates were prepared by spreading 30 ml of melted agar medium in sterile plastic Petri dishes (100 mm×140 mm×15 mm). The agar mixture contained LB medium with 1.5% agar and approximately 3×10^4 exp-phase-growth *E. coli* cells. The hemolymph samples were diluted fourfold with 0.9% saline. 10 µl of the samples to be assayed were added in 3 mm diameter wells in the agar, and the plates were then incubated at 37° C overnight. As there is a linear relation between the area of clear inhibition zone and the logarithm of the concentration of the antibacterial substances (Hultmark *et al.*, 1982), we recorded the inhibition zone radii formed around the wells and estimated the square of the difference between the clear zone radius and the well radius as the index of relative antibacterial activity.

Analysis of whole proteins in silkworm hemolymph:

To localize bands with antibacterial activity, Native-PAGE on acidic condition was carried out as described in the paper of Hultmark *et al.* (1980). The hemolymph samples were electrophoresed on 15% of polyacrylamide gel pH 4.0 at 200 V for 100 min. The gel was equilibrated neutrally by incubating for one hour in a LB broth medium contained 0.2 M phosphate buffer (pH 7.4), it was then

overlaid with the same medium containing 0.7% melted agar and viable *E. coli* cells (app. 10^4 cells/ml) to be about 1 mm thick. The gel was then incubated at 37° C overnight.

To identify inducible antibacterial proteins in the hemolymph after the injection, Tricine-SDS-PAGE was carried out using the methods of Schägger and Von Jagow (1987). 10 µl of sample hemolymph was electrophoresed. The positions of protein bands were revealed by staining with a Reagent of 2D-Silver Stain II (Daiichi Pure Chemical). The stained gel was analyzed with a densitometer, Densitograph AE-6913 (Atto).

RESULTS

Induction of antibacterial activity in hemolymph after injection:

The antibacterial activity was assayed in hemolymph samples obtained from Oha and Daizo in time order after injection. The level of activity was measured by checking the difference in the value in the hemolymph from Daizo in samples taken six hours after the injection of the vaccine. As Fig. 1 shows, the antibacterial activity of Daizo samples increased over time and reached their maximum level 24 hr after injection.

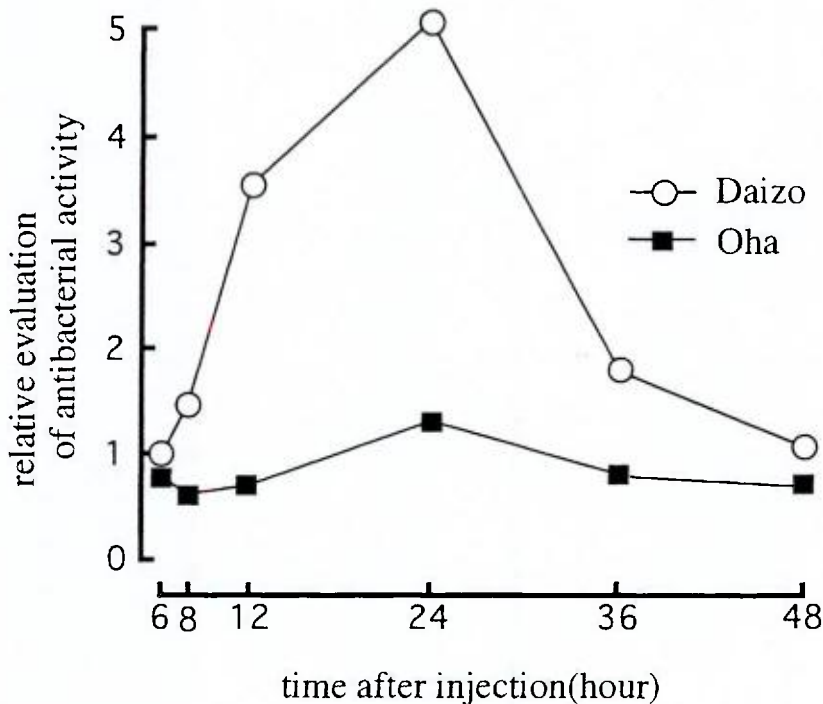


Fig. 1. Transitions of induced antibacterial activity of hemolymph in silkworm larvae. The value of activity was estimated from the area of the inhibition zones. The relative evaluation is represented by each value divided by the value of the 6-hour- post immunized hemolymph of Daizo.

Fig. 1. Transitions de l'activité antibactérienne de l'hémolymph induite chez les larves de vers à soie. On estime la valeur de l'activité d'après la surface des zones d'inhibition. L'évaluation relative est représentée par chaque valeur divisée par la valeur de l'hémolymph correspondant à 6 h. après l'immunisation de Daizo.

Relative evaluation of antibacterial activity / Evaluation relative de l'activité antibactérienne. Time after injection (hours) / Temps après l'injection (en heures).

Then the activity decreased rapidly, and at 48 hr, had returned to nearly the same level as it was at 6 hr. In Oha, the activity reached its maximum at the same time as Daizo, and then decreased. The activity measured in Daizo samples was approximately five times stronger than that for Oha.

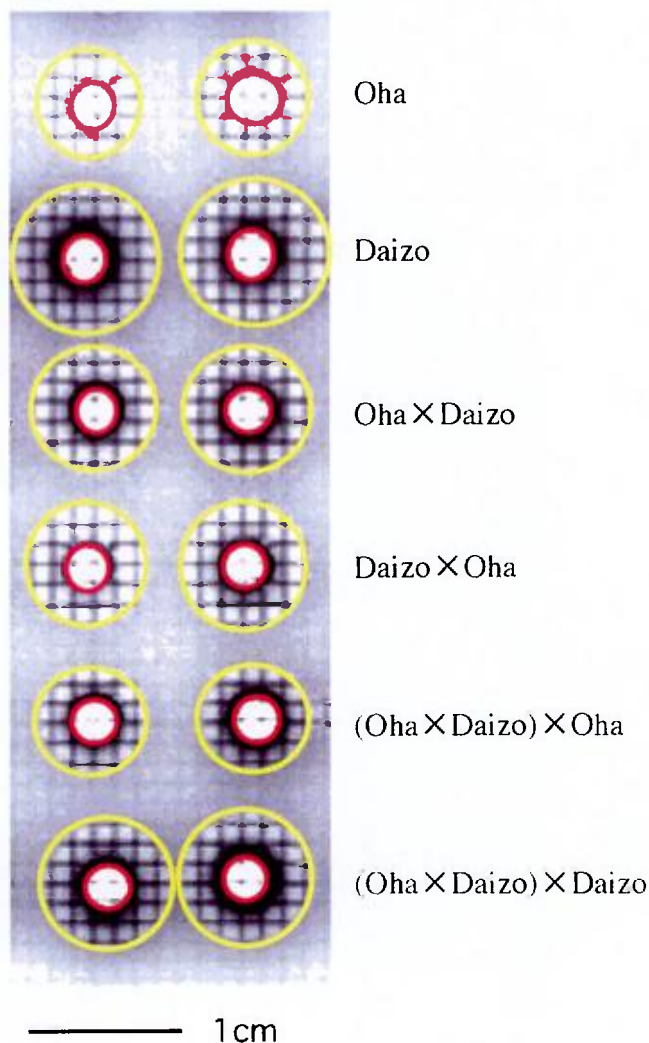


Fig. 2. Examples of induced antibacterial activity in silkworm hemolymph. Each yellow circle shows an inhibition zone. Red circles show the wells in the agar plates.

Fig. 2. Exemples d'activité antibactérienne induite dans l'hémolymphe du ver à soie. Chaque cercle jaune montre une zone d'inhibition. Les cercles rouges montrent les puits sur les plaques d'agar.

Comparison of antibacterial activity coefficients among the parental strains, F₁ and BF₁ generations:

The hemolymph passed 24 hr after the injection was used for comparison. The number of samples in each strain is described as follows: The numbers of Daizo, Oha, Oha × Daizo, Daizo × Oha, (Oha × Daizo) × Oha, and (Oha × Daizo) × Daizo were 167, 142, 144, 192, 186 and 189, respectively. The antibacterial activity coefficients of the parental strains and their crosses were represented by the square of the length from the border of an inhibition zone to the rim of the well, which was used as the area of an inhibition zone, to be compared (Fig. 2 and 3). The averages ± S.D. of the zone were $0.36\text{cm}^2/10\mu\text{l} \pm 0.12$, 0.79 ± 0.14 , 0.62 ± 0.11 , 0.64 ± 0.12 , 0.44 ± 0.13 and 0.66 ± 0.12 in Oha, Daizo,

Oha×Daizo, Daizo×Oha, (Oha×Daizo)×Oha and (Oha×Daizo)×Daizo, respectively. The activity level of Daizo samples were significantly stronger than that of Oha (Tukey-Kramer test, $P < 0.05$).

Activity levels in F_1 generations were intermediate between the two parental strains, and differed significantly from both of the parents. In the BF_1 generations, individuals showed intermediate inheritance of the activity between F_1 generations and the recurrent parent. These results showed that the character was inherited in accordance with the law of incomplete dominance.

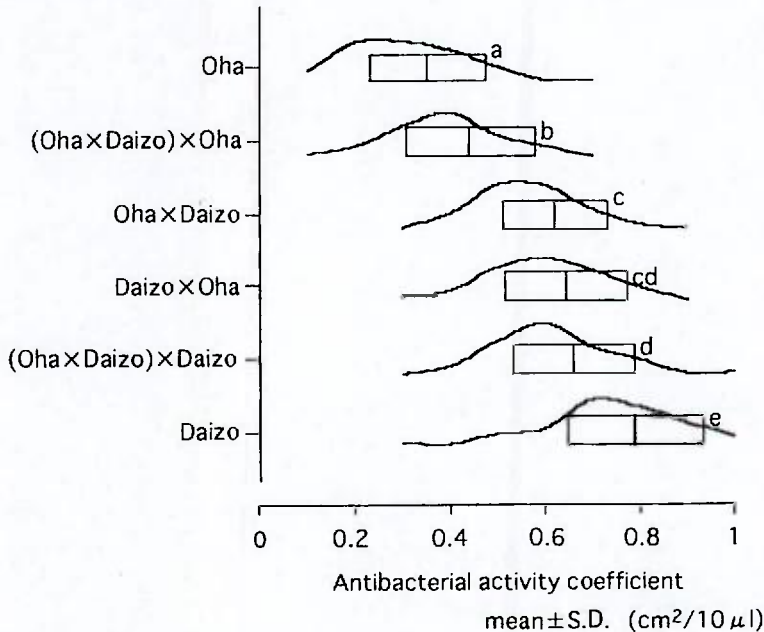


Fig. 3. Comparison of antibacterial activity among the parental strains, F_1 and BF_1 generations. The means with different alphabets are significantly different (Tukey-Kramer test $P < 0.05$). The wave form shows the frequency distribution of antibacterial activity in each experiment.

Fig. 3. Comparaison de l'activité antibactérienne entre les souches parentales et les générations F_1 et BF_1 . Les moyennes avec des alphabets différents sont significativement différentes (Test de Tukey Kramer $P < 0,05$). La forme de l'onde montre la distribution de la fréquence de l'activité antibactérienne dans chaque expérience.

Native-PAGE analysis:

The immune hemolymph collected 24 hr after injection was subjected to Native-PAGE on acidic condition and the antibacterial activity was detected by overlaying the gel with log phase bacteria in LB agar (Fig. 4). The results showed that the immunized hemolymph contained antibacterial factors, which migrated toward the cathode at pH 4.0. Spots of inhibiting bacterial growth were inspected only once at the inseparable position in each lane. In addition, the size of the spots was similar to that of the inhibition zones as in Fig. 2, respectively.

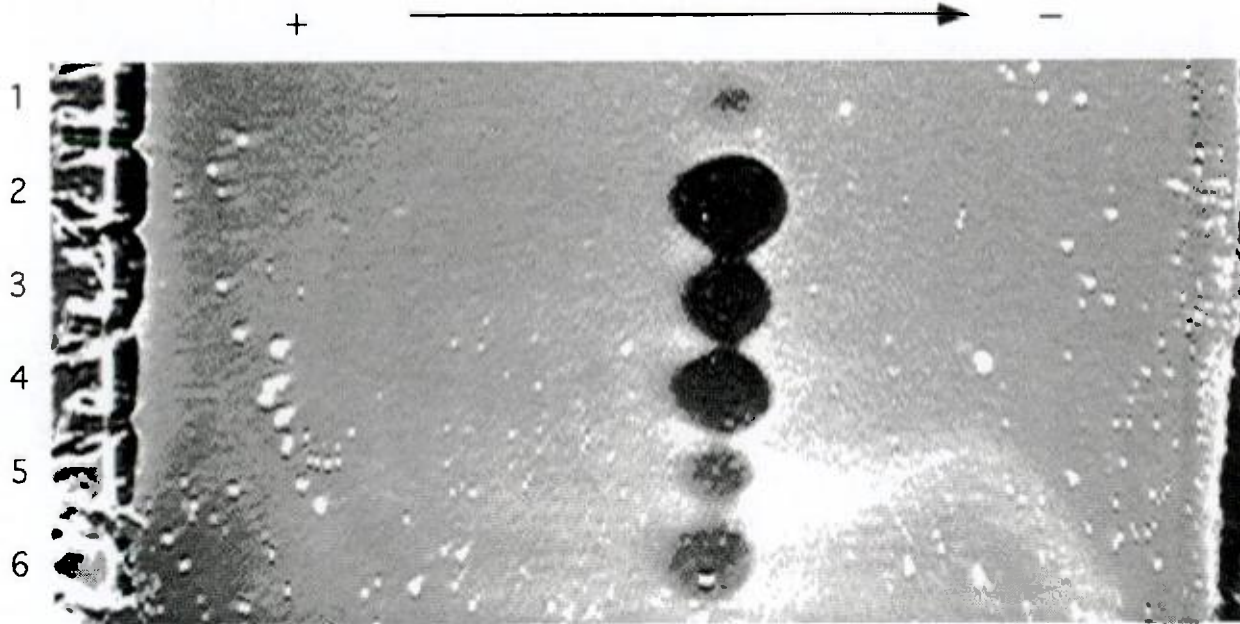


Fig. 4. Native-PAGE of immunized hemolymph on acidic condition. Antibacterial activity was visualized as dark spots after overlaying *E. coli*. 10 μ l of sample hemolymph was electrophoresed. Lane 1: Oha, 2: Daizo, 3: Oha x Daizo, 4: Daizo x Oha, 5: (Oha x Daizo) x Oha and 6: (Oha x Daizo) x Daizo.

Fig. 4. Electrophorèse native sur gel de polyacrylamide de l'hémolymphé immunisée dans des conditions acides. Après le recouvrement avec *E. coli*, on visualise l'activité antibactérienne comme des taches noires. On électrophorèse 10 μ l d'échantillon d'hémolymphé. Trajet 1 : Oha, 2 : Daizo, 3 : Oha x Daizo, 4 : Daizo x Oha, 5 : (Oha x Daizo) x Oha et 6 : (Oha x Daizo) x Daizo.

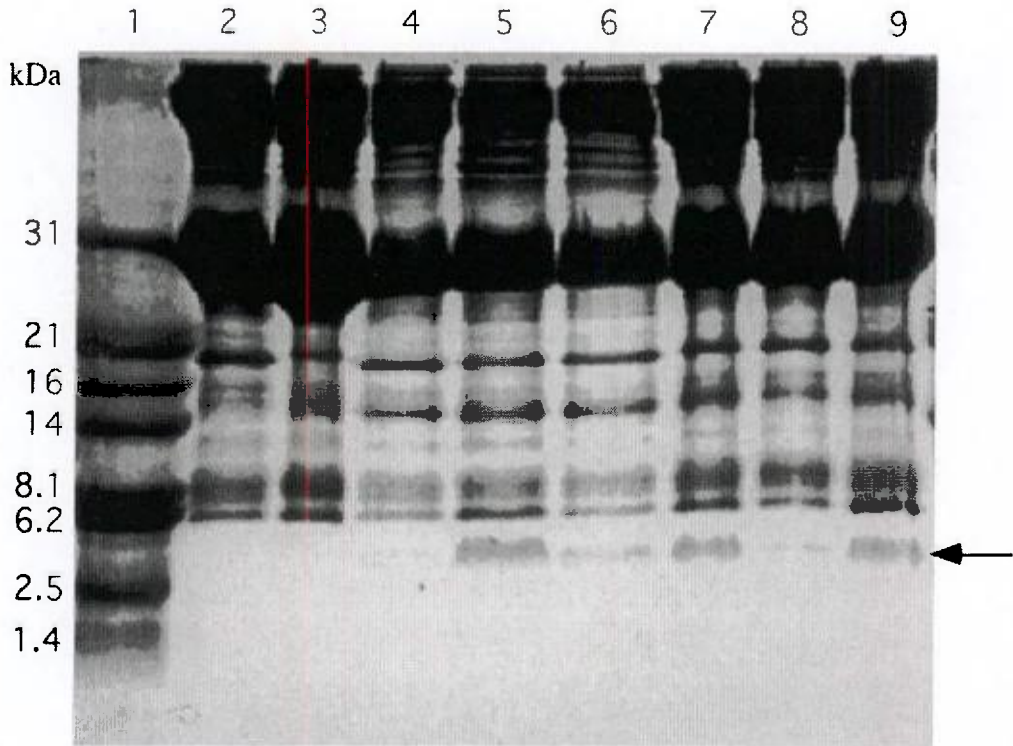


Fig. 5. Tricine-SDS-PAGE analysis of the hemolymph protein components of silkworm among parental strains, F1 and BF1 generations. The samples in lanes 2 and 3 were not immunized, and those of lanes 4 to 9 were immunized by injection with *E. coli* vaccine and collected hemolymph after 24 hr. An arrow indicates the band (app. 3.8kDa) induced specifically. Lane 1: molecular weight marker (WAKO), 2: Oha (no-immunized), 3: Daizo (no-immunized), 4: Oha, 5: Daizo, 6: Oha × Daizo, 7: Daizo×Oha, 8: (Oha×Daizo)×Oha and 9: (Oha×Daizo)×Daizo.

Fig. 5. Analyse des composants protéiques de d'hémolymph du ver à soie chez les souches parentales et les générations F1 et BF1. Les échantillons dans les trajets 2 et 3 ne sont pas immunisés et ceux des trajets 4 à 9 sont immunisés par l'injection avec le vaccin E. coli et correspondent à l'hémolymph au bout de 24 hr. Une flèche indique la bande (environ 3,8 kDa) induite spécifiquement. Trajet 1 : Marqueur de poids moléculaires (WAKO), 2 : Oha (pas immunisé), 3 : Daizo (non immunisé), 4 : Oha, 5 : Daizo, 6 : Oha × Daizo, 7 : Daizo × Oha, 8 : (Oha × Daizo) × Oha et 9 : (Oha × Daizo) × Daizo.

Tricine-SDS-PAGE analysis:

When the hemolymph of larvae injected with the bacterial vaccine was compared to the hemolymph of the uninjected controls, differences were clearly seen. Proteins with an apparent molecular weight of 3.8 kDa were present in all the hemolymphs of larvae injected with the vaccine (Fig. 5, lane 4 to 9), however we did not detect the proteins in the uninjected controls (Fig. 5, lane 2 and 3). The optical density of the banding range with the proteins of 3.8 kDa corresponded to the antibacterial activity of each sample hemolymph. And the percentage of the protein concentrations in the hemolymphs of Oha, Daizo, Oha × Daizo, Daizo×Oha, (Oha × Daizo)×Oha and (Oha× Daizo) × Daizo was, respectively, 0.56%, 3.21%, 1.45%, 1.50%, 0.96% and 1.99% by analysis with the densitometer.

DISCUSSION

In order to examine whether the strengths and weaknesses of antibacterial activity between silkworm races occurred by the gap of time when the activity reached its maximum value, we collected body fluid in a time order and measured those activities after the vaccinations. The humoral antibacterial activity was recognized in both Daizo and Oha at six hours after vaccination, and there was hardly any difference in the values between the two races (Fig. 1). The activity value rose rapidly in Daizo samples after the vaccination from 8 hours to 12 hr, and its peak reached after 24 hr. Then it rapidly lowered after 36 hr, and after 48 hr it had dropped back almost to the same level which it had reached after the 6 hr. In the meantime, for Oha, the activity value lowered slightly after 8 hr, but it increased again afterwards, and finally it gradually lowered again after 24 hr. The highest value of the activity appeared at the same time, 24 hr after the injection, in both Daizo and Oha. There was about a 5 times difference of antibacterial activity between the two races at the peak. Therefore, this difference was postulated to be a difference between Oha's induction potency for activation and Daizo's. This result agreed with the research of Sumida *et al.* (1992). In other experimental results involving several races of silkworms (data not shown), the peak activity almost always appeared after the 24 hr mark. The racial variation of antibacterial activity induced in silkworm larva hemolymph through vaccinations suggested that the changes were not due to a time lag but were indeed induction potency.

We conducted genetic analysis of inducible antibacterial activity in hemolymph from silkworm larvae using inhibition zone assay (Fig. 2 and 3). Daizo showed strong antibacterial activity, while Oha had weak activity. The F_1 generations showed intermediate activity between the two parental strains. A maternal effect was not detected in reciprocal crossings between Oha and Daizo. In addition, similar phenomenon has been observed in the F_1 generations using different parental combinations, although the activity levels have not yet been quantified (data not shown). In the BF_1 generation, the segregation into different activity levels was not this suggested. The analysis showed that most of the BF_1 individuals had an intermediate activity level between the recurrent and the F_1 parent.

If only a few major genes controlled this characteristic of the activity, there should be a characteristic segregation found in the BF_1 generation. However, the frequency distribution shape of the activity was a normal distribution, graph-like form, in all of the BF_1 generations. In addition, the parent strains and the F_1 also exhibited similar shapes. That is to say, since the characteristic expression is continuous, and the phenotype and the genotype can be not clearly correspondent, the characteristic of the antibacterial activity can be considered a quantitative trait.

In the present investigation, we judged that the heredity mode of this activity was that of incomplete dominance, because the value of the additive effect, which is the main effect of positive and negative allelomorphs, was bigger than that of the dominance effect, which is an interaction between both allelomorphs ($|a| = 0.215$, $|d| = 0.065$, $|a| > |d| \neq 0$, a : additive effect, d : dominance effect).

It was not possible to fractionate the antibacterial substance in Native-PAGE clearly (Fig. 4). In the result of Tricine-SDS-PAGE (Fig. 5), the fractionated band, which was clearly able to detect the quantitative difference, was to be located at 3.8 kDa. However, the relationship of the size of the antibacterial spots on Native-PAGE and the protein density by densitometry almost agreed with the value of the activity. Therefore, we postulated that this hereditary characteristic was controlled by some minor genes, which regulated the concentration of inducible antibacterial proteins in the hemolymph.

In this research, the silkworm larvae from which we collected hemolymph by cutting off their abdominal legs were not able to grow up to imagoes, so that it was impossible to make individual selection in order to rear the next generations. The pure line separation of alleles in the opposite activity was conducted by interbatch selection. This seems to be one reason that the activity range became wide and the genetic variations remained in the next generation. In addition, it is only an

additive effect and a dominant effect that we can estimate about the heredity mode of quantitative traits.

In silkworms, a number of strains with peculiar characteristics have been accumulated. Effective utilization of these genetic resources will advance the genetic analyses of silkworm health. In the future, it will be necessary to do the individual selection that shows the phenotypic value over the threshold, to find how many gene loci control a quantitative trait, and to know where the loci are present on which linkage groups. Besides the relative effect of heredity, Quantitative Trait Locus analysis will be necessary in order to investigate how much the additive effect and the dominance effect, which each gene loci shows, influences heredity.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Mr. Tetsuya Iizuka and Dr. Toshio Yamamoto of the Laboratory of Sericultural Science, National Institute of Agrobiological Sciences, for their kind suggestions and helpful comments to the draft of this manuscript. We are obliged to Ms. Toshiko Yamada for her helpful work. We are grateful to the Laboratory of Insect Genetics of our institute for their offer of eggs of Oha. We also thank Prof. Yasuhisa Kunimi of Tokyo University of Agriculture and Technology for his profitable advice.

REFERENCES

- FAYE I. & WYATT G. R. (1980): The synthesis of antibacterial proteins in isolated fat body from cecropin. *Experientia*. 36, 1325-1326.
- HULTMARK D., STEINER H., RASMUSON T. & BOMAN H. G. (1980): Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *Eur. J. Biochem.* 106, 7-16.
- HULTMARK D., ENGSTRÖM Å., BENNICHT H., KAPUR R. & BOMAN H. G. (1982): Insect immunity: Isolation and structure of cecropin D and four minor antibacterial components from cecropia pupae. *Eur. J. Biochem.* 127, 207-217.
- OKADA E., MASE K., NAGASAKA K. & YAMAMOTO T. (1997): Difference of inducible antibacterial activity in hemolymph among the silkworm, *Bombyx mori*, races. *J. Seric. Sci. Jpn.* 66, 116-122.
- SCHÄGGER H. & VOV JAGOW G. (1987): Tricine-sodium dodecil sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem.* 166, 368-379.
- SUMIDA M., ICHIMORI H., JOHCHI S., TAKAOKA A., YUHKI T., MORI H. & MATSUBARA F. (1992): Antibacterial activity inducible in the haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, by injection of formalin-treated *Escherichia coli* K-12 during the fifth larval instar and pharate adult development. *Comp. Biochem. Physiol.* 101B, 165-171.
- SEKI H. (1985): Interstrain differences in the resistance to the infection with densovirus (Yamanashi isolate) in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.* 56, 445-448. (In Japanese)
- ARATAKE Y. (1973): Strain difference of the silkworm, *Bombyx mori* L., in the resistance to a nuclear-polyhedrosis virus. *J. Seric. Sci. Jpn.* 42, 230-238.
- YAMAMOTO T. & FUJIMORI H. (1986): Racial specificity of several quantitative characters in the silkworm stocks (4) Interstrain difference in the susceptibility of the larvae to the fungicide "Maneb". *Tech. Bull. Seric. Exp. Sta.* 129, 35-42.
- WATANABE H. (1966): Some aspects on the mechanism of resistance to peroral infection by cytoplasmic-polyhedrosis virus in the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.* 35, 411-417.

GENETIQUE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE INDUCTIBLE DANS L'HEMOLYPHE LARVAIRE DU VER A SOIE, *BOMBYX MORI*

EIJI OKADA¹, KOUKICHI NAGASAKA² & KEISUKE MASE¹

1. Silk Technology Unit, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-10-1 Agata, Matsumoto, Nagano 390-0812, Japon.
2. Research Project Team 4 from Chemical Pesticide Minimization in Vegetable Crops, National Agricultural Research Center for Western Region, 200 Uenochō-Ueno, Ayabe, Kyoto 623-0035, Japon.

*Nous avons réalisé une analyse génétique de l'activité antibactérienne humorale induite dans l'hémolymph par vaccination bactérienne, en recueillant l'hémolymph de larves de vers à soie (*Bombyx mori* L.) de manière périodique et nous avons élevé les générations F_1 et BF_1 de races forte (Daizo) et faible (Oha), afin de les évaluer par la méthode de la zone d'inhibition d'*Escherichia coli*. La valeur la plus élevée de l'activité apparaît au même moment, c'est-à-dire environ 24 heures après la vaccination, à la fois chez les races Daizo et Oha. On estime l'activité par l'évaluation de la surface de la zone d'inhibition. La moyenne pour Oha et Daizo est respectivement de 0,36 et de 0,79 cm² / 10 µl. L'activité chez la génération F_1 est de 0,62-0,64 cm² / 10 µl. On ne trouve pas de différence significative entre les croisements réciproques. Chez la génération BF_1 , il n'apparaît pas de ségrégation des niveaux d'activité et l'analyse montre des niveaux d'activité intermédiaires entre le parent récurrent et F_1 . Ces résultats suggèrent qu'il existe certains gènes mineurs, concernant l'activité antibactérienne induite dans l'hémolymph, chez les larves de vers à soie.*

INTRODUCTION

Il existe des rapports sur les différences interraciales entre les larves de ver à soie concernant les maladies virales telles que la polyédrose nucléaire (Aratake, 1973), la denso nucléose (Seki, 1985) et la polyédrose cytoplasmique (Watanabe, 1966), ainsi que sur leur sensibilité au germicide, Maneb (Yamamoto et Fujimori, 1986). Une activité antibactérienne est induite dans l'hémolymph du ver à soie, 24 heures après une vaccination bactérienne, en réponse à une infestation par les bactéries pathogènes ; on a aussi confirmé qu'il existe des différences interraciales dans l'activité de réponse (Okada et coll., 1997). Nous avons estimé nécessaire de comparer les différences interraciales de résistance aux pathogènes chez les vers à soie, sur les plans pathologique, physiologique et génétique. De plus, nous pensons que les résultats de cette étude déboucheront sur des applications importantes pour l'élevage de lignées de vers à soie plus sains.

Dans ce rapport, nous avons étudié l'activité antibactérienne humorale induite dans l'hémolymph du ver à soie, par injection avec un vaccin bactérien, en recueillant l'hémolymph de manière périodique, après la vaccination, et nous l'avons utilisée pour déterminer le niveau d'activité antibactérienne, de manière à étudier la cause des différents niveaux de protection entre les races de ver à soie. Pour étudier la contribution de la génétique, en tant que l'une des composantes de l'activité antibactérienne, nous avons élevé les générations F_1 et BF_1 de races à la fois forte et faible. Ces résultats montrent que la période d'induction de l'activité antibactérienne diffère peu entre les races et que le caractère génétique de l'activité est la dominance incomplète. De plus, nous avons détecté

plusieurs protéines, impliquées dans l'intensité de l'activité antibactérienne, par électrophorèse sur gel de polyacrylamide Tricine-SDS.

MATERIELS ET METHODES

Insectes :

La souche Oha de *Bombyx mori* L. a été obtenue auprès du *Laboratory of Insect Genetics* de notre institut. La souche Daizo est maintenue dans notre laboratoire depuis plus de 12 générations. Notre rapport antérieur révèle que la première présente une faiblesse de l'activité antibactérienne inductible, tandis que l'autre présente une activité plus forte (Okada et coll., 1997). On croise les deux souches de manière réciproque pour produire les générations F1. On obtient les générations BF1 en croisant les femelles de F1 (Oha × Daizo) avec les mâles de Oha ou de Daizo. On élève toutes les larves sur des feuilles de mûrier selon les méthodes séricicoles habituelles. On utilise des larves du 5^{ème} âge conservées à 25° C pour toutes les expériences.

Bactéries :

L'organisme test utilisé pour l'évaluation standard de l'activité antibactérienne est *Escherichia coli* JM101, qui est maintenu dans notre laboratoire. On utilise aussi ces bactéries pour faire le vaccin.

Immunisation des larves et préparation de l'hémolymph :

On utilise *E. coli* JM101 pour produire le vaccin. On cultive l'organisme sur un bouillon LB, à 37° C pendant plus de 8 heures. Puis, on recueille les cellules par centrifugation, on les lave et on les remet en suspension deux fois dans une solution saline à 0,9 %. On autoclave la suspension à 121° C pendant 15 min. Puis, on ajuste la suspension finale à une concentration de 5×10^7 cellules /ml. On anesthésie les larves du 5^{ème} âge, âgées de 3 jours, dans de l'eau glacée, puis on les immunise en injectant 20 µl de la suspension *E. coli*, contenant 10^6 cellules, dans la première patte abdominale en utilisant une seringue. On recueille l'hémolymph en coupant les pattes abdominales et on dépose les gouttes d'hémolymph dans un tube refroidi à la glace, contenant quelques cristaux de phénylthiourée. On enlève les hémocytes et les débris en centrifugeant à 1000 tpm pendant 10 minutes, puis à 12 000 tpm pendant 5 minutes. On stocke les échantillons d'hémolymph à - 80° C.

Evaluation de l'activité antibactérienne :

On mesure l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion pour l'évaluation de la zone d'inhibition. Nous enregistrons les diamètres des zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* frais sur de fines plaques d'agar, là où on a ajouté les échantillons d'hémolymph dans les puits (Faye et Wyatt, 1980). On prépare les plaques en étalant 30 ml de milieu agar fondu dans des boîtes de Petri en plastique (100 mm × 140 mm × 15 mm). Le mélange contient du milieu LB avec 1,5 % d'agar et approximativement 3×10^4 cellules d'*E. coli* en phase de croissance. On dilue les échantillons d'hémolymph quatre fois avec la solution saline à 0,9 %. On ajoute 10 µl des échantillons à évaluer dans des puits de 3 mm de diamètre dans de l'agar, puis on incube les plaques à 37° C pendant la nuit. Comme il y a une relation linéaire entre la surface de la zone claire d'inhibition et le logarithme de la concentration des substances antibactériennes (Hultmark et coll., 1982), nous enregistrons les rayons de la zone d'inhibition autour des puits et nous estimons le carré de la différence entre le rayon de la zone claire et le rayon du puits comme l'indice de l'activité antibactérienne relative.

Analyse des protéines de d'hémolymph du ver à soie :

Pour localiser les bandes présentant une activité antibactérienne, on procède à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide, d'après la description contenue dans l'article d'Hultmark et coll., (1980). On électrophorèse les échantillons d'hémolymph sur un gel de polyacrylamide à 15 %, au pH de 4, à 200 V pendant 100 minutes. On équilibre le gel de manière neutre en l'incubant pendant une heure

dans un milieu LB contenant un tampon phosphate à 0,2 M (pH de 7,4), puis on le recouvre avec le même milieu contenant 0,7 % d'agar fondu et les cellules d'*E. coli* viables (approximativement 10^4 cellules / ml), pour qu'il ait une épaisseur d'environ 1 mm. Puis, on incube le gel à 37° C pendant la nuit.

Pour identifier les protéines antibactériennes inducibles dans l'hémolymphe, après l'injection, on procède à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide Tricine - dodécylsulfate de sodium et de polyacrylamide en utilisant les méthodes de Schägger et Von Jagow (1987). On électrophorèse 10 µl d'échantillon d'hémolymphe. On révèle les positions des bandes de protéines grâce à un réactif de coloration à l'argent II 2D (Daiichi Pure Chemical). On analyse le gel coloré avec un densitomètre, Densitographe AE-6913 (Atto).

RESULTATS

Induction de l'activité antibactérienne dans l'hémolymphe après l'injection :

On dose l'activité antibactérienne de manière chronologique après l'injection, dans les échantillons d'hémolymphe d'Oha et de Daizo. On mesure le niveau d'activité, en vérifiant la différence de valeur dans l'hémolymphe d'échantillons de Daizo, pris six heures après l'injection du vaccin. Comme la Fig. 1 le montre, l'activité antibactérienne des échantillons de Daizo augmente avec le temps et atteint son niveau maximum 24 h après l'injection. Puis, l'activité baisse rapidement et au bout de 48 h, retourne presque au même niveau qu'au bout de 6 h. Chez Oha, l'activité atteint son maximum au même moment que Daizo, puis elle baisse. L'activité mesurée dans les échantillons de Daizo est approximativement cinq fois plus forte que celle des échantillons Oha.

Comparaison des coefficients d'activité antibactérienne entre les souches parentales et les générations F₁ et BF₁ :

On utilise l'hémolymphe 24 h après l'injection pour la comparaison. Les nombres d'échantillons pour chaque souche sont les suivants : Daizo, Oha, Oha × Daizo, Daizo × Oha, (Oha × Daizo) × Oha et (Oha × Daizo) × Daizo sont respectivement 167, 142, 144, 192, 186 et 189. On représente les coefficients d'activité antibactérienne chez les souches parentales et leurs croisements par le carré de la longueur du bord de la zone d'inhibition jusqu'au bord du puits, que l'on utilise comme la surface de la zone d'inhibition, à comparer (Figs. 2 et 3). Les moyennes ± l'écart type de la zone sont $0,36 \text{ cm}^2 / 10 \mu\text{l} \pm 0,12$; $0,79 \pm 0,14$, $0,62 \pm 0,11$; $0,64 \pm 0,12$; $0,44 \pm 0,13$ et $0,66 \pm 0,12$ respectivement chez Oha, Daizo, Oha × Daizo, Daizo × Oha, (Oha × Daizo) × Oha et (Oha × Daizo) × Daizo. Le niveau d'activité des échantillons de Daizo est significativement plus important que celui d'Oha (test de Tukey - Kramer, $P < 0,05$).

Les niveaux d'activité chez les générations F₁ sont intermédiaires, entre ceux des deux souches parentales et diffèrent considérablement des deux parents. Dans les générations BF₁, les individus présentent une activité intermédiaire, entre celles des générations F₁ et celle du parent récurrent. Ces résultats prouvent que le caractère est hérité selon la loi de la dominance incomplète.

Analyse Native sur gel de polyacrylamide :

On soumet l'hémolymphe immunisée, recueillie 24 h après l'injection, à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide native, dans des conditions acides, et on détecte l'activité antibactérienne, en recouvrant le gel avec des bactéries en phase log dans de l'agar LB (Fig. 4). Les résultats montrent que l'hémolymphe immunisée contient des facteurs antibactériens qui migrent vers la cathode au pH de 4,0. On n'inspecte les taches d'inhibition de la croissance bactérienne, qu'une fois qu'elles ont atteint une position inséparable pour chaque migration. De plus, la taille des taches est similaire à celle des zones d'inhibition, respectivement, comme dans la Fig. 2.

Analyse d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide Tricine - dodécylsulfate de sodium :

Quand on compare l'hémolymph des larves injectées avec le vaccin bactérien, à l'hémolymph des témoins non injectés, des différences apparaissent clairement. Les protéines avec un poids moléculaire apparent de 3,38 kDa sont présentes dans toutes les hémolymphes des larves injectées avec le vaccin (Fig. 5, trajets 4 à 9), alors qu'on ne détecte pas ces protéines chez les témoins non injectés (Fig. 5, trajets 2 et 3). La densité optique des bandes protéiques de 3,8 kDa, correspond à l'activité antibactérienne de chaque échantillon d'hémolymph. D'après l'analyse densitométrique, le pourcentage des concentrations en protéines dans les hémolymphes de Oha, Daizo, Oha × Daizo, Daizo × Oha, (Oha × Daizo) × Oha et (Oha × Daizo) × Daizo est de respectivement 0,56 % ; 3,21 % ; 1,45 % ; 1,50 % ; 0,96 % et 1,99 %.

DISCUSSION

Pour examiner, si les forces et les faiblesses de l'activité antibactérienne entre les races de vers à soie s'établissent pendant l'espace de temps où l'activité atteint sa valeur maximum, nous avons recueilli du liquide corporel de manière chronologique et nous avons mesuré ces activités, après les vaccinations. On reconnaît l'activité antibactérienne humorale à la fois chez Daizo et Oha, six heures après la vaccination, et il n'existe presque aucune différence de valeurs entre les deux races (Fig. 1). La valeur de l'activité, après la vaccination, augmente rapidement chez les échantillons de Daizo entre 8 heures et 12 heures et elle atteint son pic au bout de 24 h. Puis, elle baisse rapidement au bout de 36 h et au bout de 48 h, elle baisse presque au même niveau qu'au bout de 6 h. Entre-temps, pour Oha, la valeur de l'activité baisse légèrement au bout de 8 h, mais elle augmente encore après et finalement, elle baisse progressivement à nouveau au bout de 24 h. La valeur la plus élevée de l'activité apparaît au même moment, 24 h après l'injection, à la fois chez Daizo et Oha. Il existe une différence d'activité antibactérienne de l'ordre de 5 entre les deux races à leur sommet. On émet donc l'hypothèse que cette différence est une différence de la puissance d'induction de l'activation. Ce résultat est en accord avec l'étude de Sumida et coll., (1992). Dans d'autres résultats expérimentaux impliquant plusieurs races de vers à soie (données non présentées), le sommet de l'activité apparaît presque toujours au bout de 24 h. La variation raciale de l'activité antibactérienne, induite dans l'hémolymph d'une larve de ver à soie par les vaccinations, suggère que les changements ne sont pas dus à un décalage, mais bien à la puissance d'induction.

Nous avons réalisé une analyse génétique de l'activité antibactérienne inductible, dans l'hémolymph de larves de ver à soie, en utilisant l'évaluation de la zone d'inhibition (Figs. 2 et 3). Daizo présente une forte activité antibactérienne tandis que l'activité d'Oha est faible. Les générations F₁ présentent une activité intermédiaire, entre celles des deux souches parentales. On ne détecte pas d'effet maternel dans les croisements réciproques entre Oha et Daizo. De plus, on observe un phénomène similaire chez les générations F₁, en utilisant des combinaisons parentales différentes, bien que les niveaux d'activité n'aient pas encore été quantifiés (données non présentées). Dans la génération BF₁, il n'apparaît pas de ségrégation en différents niveaux d'activité. L'analyse montre que la plupart des individus BF₁ ont un niveau d'activité intermédiaire entre celui du parent récurrent et du parent F₁.

S'il n'y avait que quelques gènes principaux qui contrôlaient cette caractéristique de l'activité, on devrait trouver une ségrégation caractéristique dans la génération BF₁. Cependant, la forme de la distribution de la fréquence de l'activité, est une distribution normale dans toutes les générations BF₁. De plus, les souches parentales et F₁ présentent aussi des formes similaires. C'est à dire que, puisque l'expression caractéristique est continue et le phénotype et le génotype ne sont pas clairement correspondants, on peut considérer l'activité antibactérienne comme un caractère quantitatif.

Dans cette étude, nous avons jugé que le mode d'hérédité de cette activité est celui de la dominance incomplète, parce que la valeur de l'effet additif, qui est le principal effet des allélomorphes positifs et négatifs, est plus importante que celle de l'effet de dominance, qui est une

interaction entre deux allélomorphes ($|a| = 0.215, |d| = 0.065, |a| > |d| \neq 0$, a : effet additif, d : effet de dominance).

Il n'est pas possible de fractionner clairement la substance antibactérienne par électrophorèse Native sur gel de polyacrylamide (Fig. 4). Dans le résultat obtenu avec l'électrophorèse Tricine – SDS – PAGE (Fig. 5), la bande fractionnée, qui permet de détecter clairement la différence quantitative, devait être située à 3,8 kDa. Cependant, la relation entre la taille des taches antibactériennes avec la PAGE – Native et la densité des protéines par la densitométrie est presque en accord avec la valeur de l'activité. Nous émettons donc l'hypothèse que cette caractéristique héréditaire est contrôlée par des gènes mineurs, qui régulent la concentration en protéines antibactériennes inductibles dans l'hémolymph.

Dans cette recherche, les larves de vers à soie dont nous avons recueilli l'hémolymph en coupant leurs pattes abdominales, ne sont pas capables de se développer en imagos, de sorte qu'il est impossible de faire une sélection des individus de manière à élever le niveau dans les générations suivantes. On procède à la séparation des allèles en lignée pure par une sélection entre lots. Cela semble être une des raisons pour laquelle la fourchette d'activité devient importante et pour laquelle les variations génétiques demeurent dans la génération suivante. De plus, on ne peut estimer que l'effet additif et que l'effet dominant concernant le mode d'hérédité des caractères quantitatifs.

Chez les vers à soie, on a accumulé un certain nombre de souches aux caractéristiques particulières. L'utilisation efficace de ces ressources génétiques permettra de faire avancer les recherches, en matière de génétique, sur la santé du ver à soie. Dans le futur, il sera nécessaire de réaliser une sélection des individus présentant une valeur phénotypique au-dessus du seuil, pour trouver combien de loci contrôlent un caractère quantitatif et pour savoir où les loci sont présents, sur quels groupes de liaison. Par ailleurs, il faudra procéder à l'analyse de l'effet relatif de l'hérédité et du locus du caractère quantitatif, pour examiner à quel point l'effet additif et l'effet de dominance, que présentent les loci de chaque gène, influencent l'hérédité.

STUDIES ON THE SITE AND INTENSITY OF INFECTION BY TWO MICROSPORIDIA (*Lb_{ms}* AND *NOSEMA BOMBYCIS*) IN VARIOUS TISSUES OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. DURING LARVAL DEVELOPMENT

SHABIR AHMAD BHAT* & B. NATARAJU

Silkworm Pathology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute (CSR&TI),
Mysore – 570 008, Karnataka, India. Tel. +91-821-2362571; Fax: +91-821-2363757;
E-mail: bhat_shabir2003@yahoo.com

The site and intensity of infection of Lamerin microsporidia (Lb_{ms}) and Nosema bombycis in larval tissues of the silkworm, Bombyx mori L were studied and compared. Lb_{ms} infects all susceptible tissues i. e , gut, malpighian tubules, trachea, silk gland, fat bodies and gonads as N. bombycis but the intensity of infection was lower in all infected tissues. Due to low intensity of infection the tissues did not show hypertrophy of cells and only a few mature spores could be observed under microscope in direct contact with the host cell cytoplasm.

Keywords: Lamerin, *N. bombycis*, Microsporidia, Intensity, Infection

INTRODUCTION

Microsporidia are obligate intracellular parasites of all animal phyla and are common in arthropods (Larsson, 1988). Most species of microsporidia have a common characteristic, that they produce infectious spores with unique organelle called the polar tube for their invasion into the host (Undeen, 1997). Umpteen authors reported that spore formation is observed in different tissues (Fujiwara, 1985; Sato and Watanabe, 1985; Han and Watanabe, 1988; Iwashita *et al.*, 1990). Multiplication and spore yield of microsporidia in various host systems are widely studied (Lai and Canning, 1983). As the intensity of microsporidia is tissue specific (Sasidharan *et al.*, 1994) testing of individual tissues gives more accuracy than the whole larva. The spore concentration in infected tissues was found to be higher in gonads followed by fat bodies, gut and malpighian tubules in *B. mori* (Bansal *et al.*, 1997). The microsporidia infect silkworm by *per os* means and the process initiates with the germination of spores in the gut and later passes through the gut wall and invades various tissues of the host (Brook, 1988). Lamerin – a hibernating mulberry silkworm breed from Northeast part of India, hosts a vertically transmitted microsporidia for generations (Shabir Ahmad Bhat and Nataraju 2004). The microsporidia causing the disease is not found to be an important factor that adversely influences the morphometrics and development of the host (Shabir Ahmad Bhat and Nataraju 2005). There was no systematic study to understand the abilities or disabilities of either the microsporidia or the host that helped the two to be in close association for the past several generations. Hence, the present investigation was undertaken to study the site and intensity of infection of *Lb_{ms}* in comparison with the standard strain *N. bombycis*, in various tissues, with relation to the development of the host.

* To whom correspondence should be addressed.

MATERIAL AND METHODS

Microsporidia inoculation and rearing conditions:

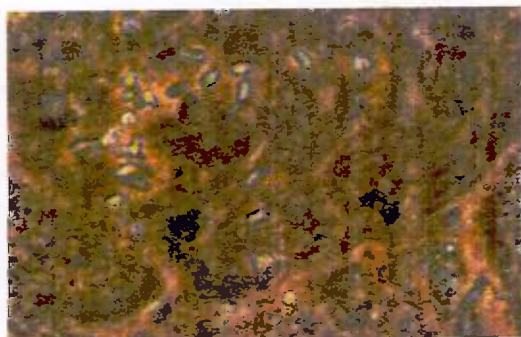
To determine the site (s) and intensity of infection, one ml of inoculum containing 1×10^7 spores / ml of *Lbms* was smeared on to the mulberry leaf disc (50 sq. cms surface area) which was then fed to healthy silkworms just after 3rd moult. For comparison of the result, different set of silkworm were inoculated with *N. bombycis* per orally with inoculum containing 1×10^7 spores / ml. The inoculum was prepared from purified stock and quantified following the standard method using haemocytometer (Cantwell, 1974). The larvae were allowed to feed on surface inoculated leaves for 24hrs. The rearing was continued on uncontaminated mulberry leaf after 24h from the inoculation till onset of spinning following standard rearing method {temperature $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and relative humidity (RH) 65-65% (Datta, 1992)}.

Microscopic examination of infected tissues:

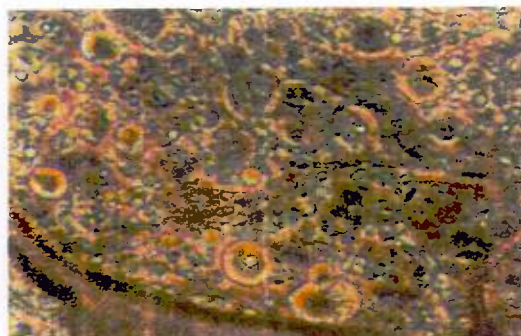
Infected tissue silkworm larvae previously inoculated with spore of microsporidia (*Lbms* or *N. bombycis*) were harvested at different times of post inoculation (pi) and were dissected out dorsally under a dissection microscope (Leica, Wild - M8). The collected tissues viz., gut, malpighian tubules, trachea, silk gland, fat bodies and gonads were examined under microscope for presence / absence of spore and the intensity of infection by the two intracellular parasites. A sample of tissue was placed with a drop of water between two micro slides and pressed. Mechanical and osmotic pressure causes the cells to lyse and release the spores from the host cells. To detect the infection, the tissues were examined and observations were recorded as positive (+) and negative (-). The intensity of infection / microscopic field was recorded as nil: -; low: +; and high: ++. The term nil, low and high for spore number was quantitative. Nil (-) indicates that no spore was present, low (+) which contained 1-5 spores and high (++) contained 30 or more spores / microscopic field. A Nikon (Type - 104) phase contrast microscope was used for all microscopic studies and for preparing microphotographs.

RESULTS AND DISCUSSION

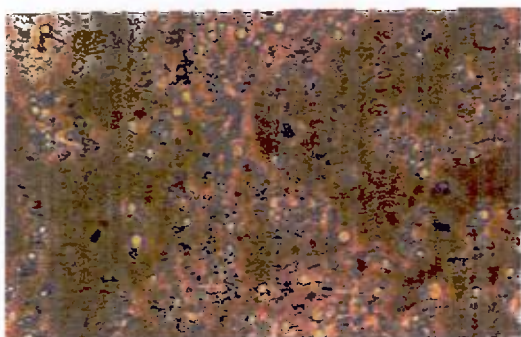
Observations on the presence / absence and the intensity of microsporidia (*Lbms* or *N. bombycis*) in different tissues are presented in Fig. 1 - 2 and Table I. The spore stage of the *Lbms* microsporidia was first observed on the 9th day of post inoculation in the midgut. The intensity of infection was low (+). On 10th day of post inoculation, spores were observed in the fat bodies and on 11th day in malpighian tissues followed by gonads on 12th day and trachea, silk gland and haemolymph on 13th day. The infected larvae did not exhibit any external visible sign i.e., the infection was not apparent externally but was only identified after examination of smears of tissues. In case of *N. bombycis*, the infection was apparent, the infected larvae were tiny in size with wrinkled integument. The spore stage makes first appearance on the 6th day of post inoculation in midgut, fat bodies and malpighian tubules with low (+) level of infection. It spreads to gonads, trachea and silk gland by 7th day with low (+) level of infection. The intensity of infection remains constant in *Lbms* infected tissues till the onset of spinning however in case of *N. bombycis* the intensity of infection increases in all the tissues from 8th day onwards till spinning except in haemolymph where infection remained low.



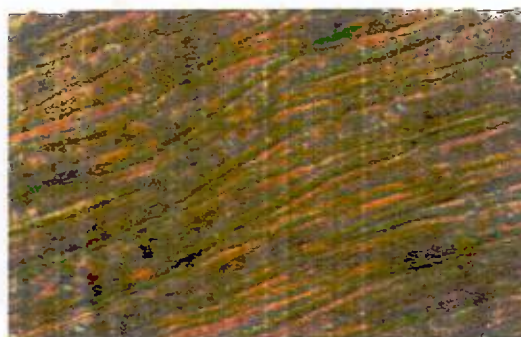
1a. Gut (9th day pi)



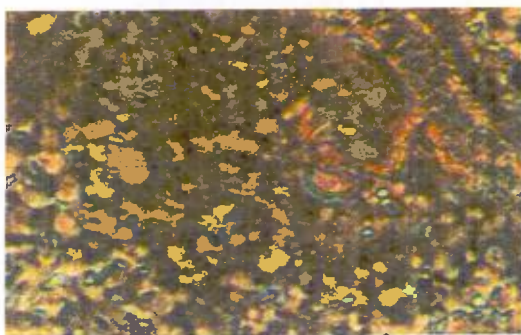
1d. Gonad (12th day pi)



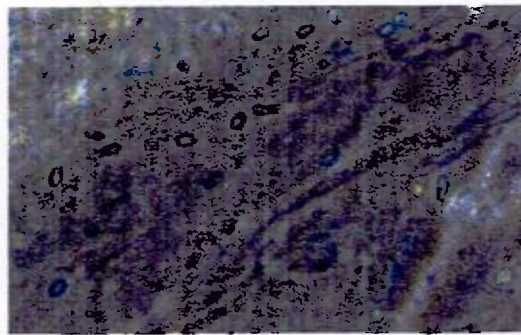
1b. Fat bodies (10th day pi)



1e. Trachea (13th day pi)



1c. Malpighian tubule (11th day pi)

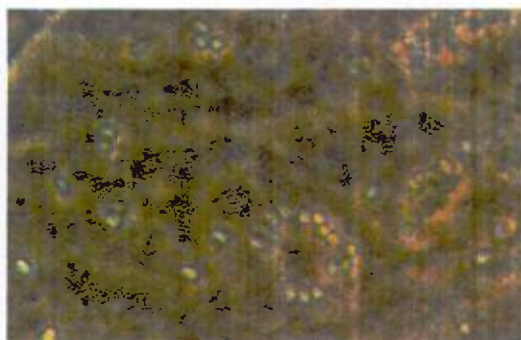


1f. Silk gland (13th day pi)

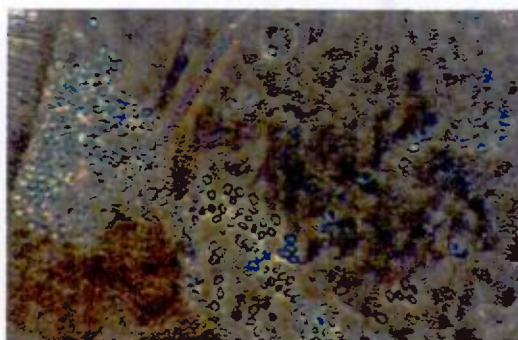
Fig. 1. Microphotographs of different silkworm tissues infected by Lbms (600 ×).

Fig. 1. Microphotographies de différents tissus du ver à soie infestés par Lbms (600 ×).

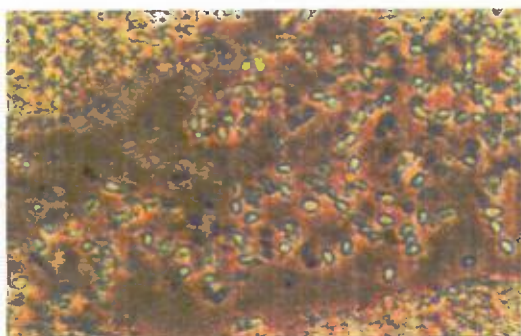
1. a. Intestin (9ème jour après l'infestation). 1b. Corps gras (10ème jour après l'infestation). 1c. Tube de Malpighi (11ème jour après l'infestation). 1d. Gonade (12ème jour après l'infestation). 1e. Trachée (13ème jour après l'infestation). 1f. Glande séricigène (13ème jour après l'infestation).



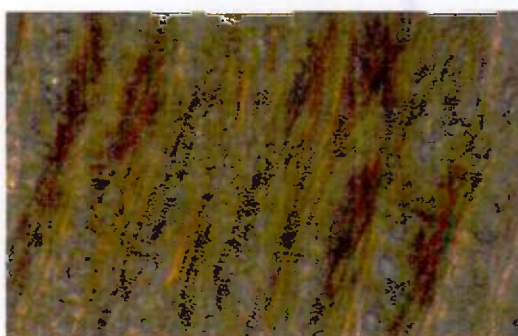
2a. Gut (6th day pi)



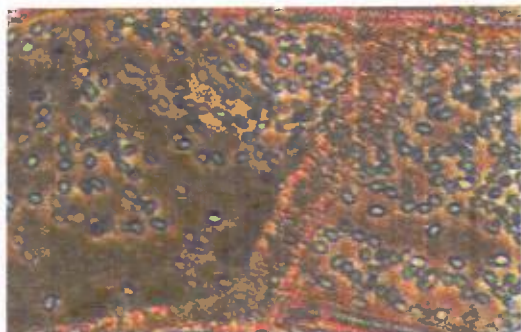
2d. Gonad (7th day pi)



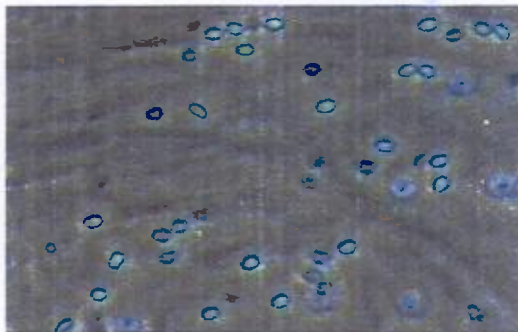
2b. Fat bodies (6th day pi)



2e. Trachea (7th day pi)



2c. Malpighian tubule (6th day pi)



2f. Silk gland (7th day pi)

Fig. 2. Microphotographs of different silkworm tissues infected by *N. bombycis* (600 ×).

Fig. 2. Microphotographies de différents tissus du ver à soie infestés par *N. bombycis* (600 ×).

2a. Intestin (6^{ème} jour après l'infestation). 2b. Corps gras (6^{ème} jour après l'infestation). 2c. Tube de Malpighi (6^{ème} jour après l'infestation). 2d. Gonade (7^{ème} jour après l'infestation). 2e. Trachée (7^{ème} jour après l'infestation).

Table I. Intensity of infection in different tissues of silkworm by *Lb_{ms}* and *N. bombycis*.Tableau I. Intensité de l'infestation dans différents tissus du ver à soie par *Lb_{ms}* et par *N. bombycis*.

Tissues	<i>Lb_{ms}</i>					<i>N. bombycis</i>				
	Days of PI and infection intensity <i>Nbre de jours après l'infestation et intensité de l'infestation</i>					Days of PI and infection intensity <i>Nbre de jours après l'infestation et intensité de l'infestation</i>				
	9	10	11	12	13	6	7	8	9	10
Gut / Intestin	+	+	+	+	+		+	+	++	++++
Malpighian tubules <i>Tubes de Malpighi</i>	-	-	+	+	+		+	+	++	++++
Trachea / Trachée	-	-	-	-	+		-	+	++	++++
Silk gland <i>Glande séricigène</i>	-	-	-	-	+		-	+	++	++++
Fat bodies <i>Corps gras</i>	-	+	+	+	+		+	+	++	++++
Gonads / Gonades	-	-	-	+	+		-	+	++	++++
Haemolymph <i>Hémolymph</i>	-	-	-	-	+		-	-	-	++

-: No infection / *Pas d'infestation* ; +: Low infection / *Faible infestation*; ++: High infection / *Infestation élevée*;
 PI : post inoculation / *Après l'inoculation*.

Several microsporidia were reported to cause infection in silkworm and most of them normally infect through *per os* method. The process of infection initiates with the germination of spores in the larval gut and the spore formation is entirely intracellular (Fujiwara, 1985; Sato and Watanabe, 1985; Han and Watanabe, 1988; Iwashita et al., 1990). Microsporidia penetrates into the haemocoel and exits extracellularly in the haemolymph or intracellularly within the cells of various tissues and organs (Tanada and Kaya, 1993). Many microsporidia live in the gut as harmless commensals (Brook, 1988). A microsporidian sp. NIK-5hm was isolated from the haemocytes of the silkworm, *B. mori* (Selvakumar, et al., 2005). The infection by *N. bombycis* NIS-001, *Nosema* sp. NIS-M11, *Vairimorpha* sp. NIS-M12, *Nosema* sp. NIS-M14 and *Microsporidium* sp. NIS-M25 in silkworm are systemic (Fujiwara, 1980; 1985). These microsporidia form the environmental spores in all tissues and organs such as muscle, fat body, silk gland, malpighian tubules and gonads. There is also initial development of environmental spores in midgut epithelium by all these microsporidia. *N. bombycis* NIS-001 is highly gonadotropic while *Nosema* sp NIS-M11 is moderately gonadotropic (Han and Watanabe, 1988). *Pleistophora* sp. form uninucleate environmental spores and infect only midgut epithelium

(Fujiwara, 1984) and *Thelohania* sp. form octospore only in the larval muscle cells (Becnel and Andreadis, 1999).

In the present study, both the microsporidia (*Lbms* or *N. bombycis*) were able to infect all the susceptible tissues but *Lbms* was less intense and slower in infection as compared to *N. bombycis*. Only 1 - 5 mature spores could be observed per microscopic field. These differences may be due to the low virulence or low spore multiplication rate of the parasite in different host tissues. The difference in the spore yield could be attributed to their virulence, type of tissues and also the temperature at which the host is reared (Madana Mohanan et al., 2005; Madana Mohanan et al., 2006). Difference in virulence of *Nosema heterosporum* and *Nosema plodia* was reported (Kellen and Lindegren, 1974) in the larvae of Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. Similarly, *Nosema acridophagus* produced fewer spores in migratory grasshoppers, *Melanoplus sanguinipes* than in similarly inoculated corn earworm, while spore production was reported similar in these insects, when they were inoculated with *Nosema cuneatum* (Henry et al., 1979). Unlike most low virulent microsporidia such as *Nosema* sp. NIS-M11, NIS-M14, *Microsporidium* sp. NIS-M25, *Pleistophora* sp. NIS-M27 and *Thelohania* Sp. NIS-M32, *Lbms* infects gonads and transmits disease from infected female mother moths to the progeny population (Shabir Ahmad Bhat and Nataraju, 2005). Gonadal infection has an important bearing on the vertical transmission of the parasite through transovarial transmission. This aspect is important in sericulture industry since silkworm eggs distributed to farmers are required to be certified as infection free.

The results of the present observations explain the reasons for low mortality and low rate of transmission of *Lbms* in silkworm. The difference in the spore intensity may be a reflection of the host parasite interaction, possibly due to the lower virulence of the microsporidia. *Lbms* is associated with Lamerin breed for several generations, an adaptation of parasite to host might have occurred, thus rendering the microsporidia less virulent to the host and hence showed least spore yield in various tissues of Lamerin breed of the silkworm, *Bombyx mori* L.

ACKNOWLEDGMENT

Authors express heartfelt thanks to Dr. S. B. Dandin, Director of the Institute for encouragement and also providing the opportunity and necessary research facilities during the study.

REFERENCES

- BANSAL A K. SAXENA N N. SHUKLA R M. ROY D K. SINHA B R R P. & SINHA S S. (1997) A technique proposed for estimation of pebrine in grainages, *Sericologia*. 37: 11-14.
- BECNEL J J. & ANDREADIS T G. (1999) Microsporidia in insects; In The microsporidia and microsporidiosis. Wittner, M. and L.M. weiss (eds.), pp-447-501, ASM press, Washington, D.C.
- BROOK W M. (1988) Entomogenous protozoa. In C.M. Ignoffo (ed.), CRC Handbook of Natural Pesticides. Microbial Insecticides, Part A Entomogenous protozoa and Fungi. CRC Press. Boca Raton Florida.
- CANTWELL G E. (1974) Insect diseases. Vol. II, Marcel Dekkar Inc. New York, pp. 501-547.
- DATTA R K. (1992) Improvement of silkworm races (*Bombyx mori* L) in India. *Sericologia*. 24: 393-415.
- FUJIWARA T. (1980) Three microsporidia (*Nosema* sp) from the silkworm, *Bombyx mori* L. *J.Seric. Sci. Jpn.* 49: 229-236.
- FUJIWARA T. (1984) A *Pleistophora* like microsporidia isolated from silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.* 53: 398-402.
- FUJIWARA T. (1985) Microsporidia from silkmooths in egg production in sericulture. *J.Seric. Sci. Jpn.* 54: 108-111.

- HAN M S. & WATANABE H (1988) Transovarial transmission of two microsporidia in the silkworm, *Bombyx mori*, and disease occurrence in the progeny population. J. Invertebr. Pathol. 51: 41-45.
- HENRY J E. OMA E A. ONSAGER J A. & OLDACRE S W. (1979) Infection of corn earworm *Heliothis zea* with *Nosema acridophagus*, and *N. cuneatum* from grass hopper, relative virulence and production of spore, J. Invertebr. Pathol. 34: 125-132.
- IWASHITA Y. SUZUKI T. NAKAZATO S. & KOBAYASHI H. (1990) Multiplication and transovarial transmission of three microsporidians infecting silkworm, *Bombyx mori*. Tech. Bull. Seric. Sci. Inst. 38: 38, 35-43.
- KELLEN W R. & LINDEGREN J E. (1974) Comparative virulence of *Nosema plodiae* and *Nosema heterosporum* in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. J. Invertebr. Pathol. 23: 242-245.
- LAI P F. & CANNING E U. (1983) Some factors affecting spore replication of *Nosema algerae* (Microspora, Nosematodae) in *Pieris brassicae* (Lepidoptera). J. Invertebr. Pathol. 41: 20-26.
- LARSSON J I R. (1988) Identification of microsporidian genera (Protozoa, Microspora) – a guide with comments on the taxonomy. Arch. Protistenkd. 136: 1-37.
- MADAN MOHANAN N. KRISHNAN N. MITRA P. DAS K K. SARATCHANDRA B. & HALDAR D P. (2005) Seasonal impact of microsporidian infection on the reproductive potential of silkworm, *Bombyx mori* L (Lepidoptera: Bombycidae), Int. J. Indust. Entomol. 2: 107–111.
- MADAN MOHANAN N. KRISHNAN N. MITRA P. DAS K K. SARATCHANDRA B. & HALDAR D P. (2006) Influence of the temperature on microsporidia multiplication and the spore production in various tissues of silkworm (*Bombyx mori* L) during larval development, Int. J. Indust. Entomol. 2: 87 -93.
- SASIDHARAN T O. SINGH R N. SAMSON M V. MANJULA A. SANTHA P C. & CHANDRASHEKHARIAH. (1994) Spore replication rate of *Nosema bombycis* (Microspora, Nosematodae) in the silkworm, *Bombyx mori* L. in relation to the pupal development and age of moth. Insect Sci. Applic. 15: 427-431.
- SATO R. & WATANABE H. (1985) Sporogonial sequence in microsporidia pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn. 55: 10-16.
- SELVAKUMAR T. NATARAJU B. CHANDRASEKHARAN K. SHARMA S D. BALAVENKATASUBBIAH M. SUDAHAKARA RAO. THIAGARAJAN V. & DANDIN S B. (2005) Isolation of a new microsporidian sp. (NIK-5hm) forming spores within the haemocytes of silkworm, *B. mori* L. Int. J. Indust. Entomol. 11: 63-66.
- SHABIR AHMAD BHAT. & NATARAJU B. (2004) Preliminary Study on a microsporidian isolate occurring in the Lamerin breed of the Silkworm, *Bombyx mori* L. in India. Int. J. Indust. Entomol. 9: 265-267.
- SHABIR AHMAD BHAT. & NATARAJU B. (2005) A report on the impact of a microsporidian parasite on Lamerin breed of the Silkworm, *Bombyx mori* L. Int. J. Indust. Entomol. 10: 143 – 145.
- TANADA Y. & KAYA H. (1993) Protozoan infections: In Insect pathology. pp 388-413, Academic press, Inc. California.
- UNDEEN A H. (1997) Microsporidia (Protozoa) A handbook of biology and Research technique Southern Comparative Series Bulletin No. 387.

ETUDES SUR LE SITE ET L'INTENSITE DE L'INFESTATION PAR DEUX MICROSPORIDIES (*Lb_{ms}* ET *NOSEMA BOMBYCIS*) DANS DES TISSUS VARIES DU VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L. PENDANT LE DEVELOPPEMENT LARVAIRE

SHABIR AHMAD BHAT* & B. NATARAJU

Silkworm Pathology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute (CSR&TI),
Mysore - 570 008, Karnataka, Inde. Tel. + 91-821-2362571 o Fax : + 91 -821 2363757 o E-mail :
bhat_shabir2003@yahoo.com

*Nous avons étudié et comparé le site et l'intensité de l'infestation par *Lamerin microsporidia* (*Lb_{ms}*) et par *Nosema bombycis* dans les tissus larvaires du ver à soie *Bombyx mori* L. *Lb_{ms}* infeste tous les tissus sensibles, c'est-à-dire l'intestin, les tubes de Malpighi, la trachée, la glande séricigène, le corps gras et les gonades comme *N. bombycis* mais l'intensité de l'infestation est plus faible dans tous les tissus infestés. Comme l'infestation est faible, les tissus ne présentent pas d'hypertrophie des cellules et, au microscope, on observe seulement quelques spores matures en contact direct avec le cytoplasme de la cellule de l'hôte.*

INTRODUCTION

Les microsporidies sont des parasites intracellulaires obligés de tous les phylla des animaux et sont courants chez les arthropodes (Larsson, 1988). La plupart des espèces de microsporidies ont une caractéristique en commun, c'est-à-dire qu'elles produisent des spores infectieuses, avec une organelle unique appelée le tube polaire pour l'invasion de l'hôte (Undeen, 1997). De nombreux auteurs ont publié des rapports sur la formation de spores dans différents tissus (Fujiwara, 1985 ; Sato et Watanabe, 1985 ; Han et Watanabe, 1988 ; Iwashita et coll., 1990). On a beaucoup étudié la multiplication et le rendement en spores de microsporidies chez des systèmes hôtes variés (Lai et Canning, 1983). Comme l'intensité des microsporidies est spécifique du tissu (Sasidharan et coll., 1994), il est plus juste de tester les tissus individuellement que la larve entière. On constate que la concentration en spores dans les tissus infestés est plus élevée dans les gonades, suivies par le corps gras, l'intestin et les tubes de Malpighi chez *B. mori* (Bansal et coll., 1997). Les microsporidies infestent le ver à soie *per os* et le processus commence avec la germination des spores dans l'intestin et plus tard, elles passent par la paroi de l'intestin et envahissent des tissus variés de l'hôte (Brook, 1988). *Lamerin* - une lignée de ver à soie du mûrier à diapause du nord-est de l'Inde, est l'hôte de microsporidies transmises de manière verticale au cours des générations (Shabir Ahmad Bhat et Nataraju, 2004). La microsporidie qui provoque la maladie n'est pas un facteur ayant une influence négative importante sur la morphométrie et le développement de l'hôte (Shabir Ahmad Bhat et Nataraju, 2005). Au cours des générations précédentes, il n'y a pas eu d'étude systématique pour comprendre les aptitudes ou les inaptitudes des microsporidies ou de l'hôte à être en association

* Auteur auquel adresser la correspondance.

étroite. Nous avons donc entrepris cette recherche pour étudier le lieu et l'intensité de l'infestation par *Lbms* dans des tissus variés en rapport avec le développement de l'hôte, en la comparant avec celle par la souche standard de *N. bombycis*.

MATERIELS ET METHODES

Inoculation des microsporidies et conditions d'élevage :

Pour déterminer le(s) lieu(x) de l'infestation, on étale un ml d'inoculum contenant 1×10^7 spores / ml de *Lbms* sur un disque de feuille de mûrier (surface de 50 cm^2) avec lequel on alimente des vers sains juste après la 3^{ème} mue. Pour comparer les résultats, on inocule un lot différent de vers à soie avec *N. bombycis per os*, avec un inoculum contenant 1×10^7 spores / ml. On prépare l'inoculum à partir d'une souche purifiée et on le quantifie en utilisant un hémocytomètre (Cantwell, 1974). On laisse les larves se nourrir sur la surface des feuilles inoculées pendant 24 heures. On continue l'élevage sur une feuille de mûrier non contaminée 24h après l'inoculation, jusqu'au début du filage, en suivant une méthode d'élevage standard (température $25 \pm 1^\circ \text{C}$ et une humidité relative (HR) de 65-65 % (Datta, 1992).

Examen microscopique des tissus infestés :

On recueille les tissus infestés des larves de vers à soie, préalablement inoculées avec les spores de microsporidies (*Lbms* ou *N. bombycis*), à différents moments après l'inoculation (pi) et on les dissèque par le dos sous une loupe (Leica, Wild - M8). On examine les tissus recueillis, c'est à dire, l'intestin, les tubes de Malpighi, la trachée, la glande séricigène, le corps gras et les gonades sous un microscope par rapport à la présence / à l'absence de spores et par rapport à l'intensité de l'infestation par les deux parasites intracellulaires. On place un échantillon de tissu avec une goutte d'eau entre deux lames et on le presse. On enregistre les observations en tant que positives (+) et négatives (-). On enregistre l'intensité de l'infestation / champ microscopique en tant que nulle -, faible : + et élevée : ++. Le terme nul, faible et élevé pour le nombre de spores est quantitatif. Nul (-) indique qu'il n'y a aucune spore présente, faible (+) qui contient 1 à 5 spores et élevé (++) qui contient 30 ou plus de spores / champ microscopique. On utilise un microscope à contraste de phase Nikon (Type - 104) pour toutes les études microscopiques et pour préparer les microphotographies.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les observations sur la présence / l'absence et l'intensité des microsporidies (*Lbms* ou *N. bombycis*) dans les différents tissus sont présentées dans les Figs 1 - 2 et dans le Tableau I. On observe d'abord le stade de la spore de la microsporidie de *Lbms*, le 9^{ème} jour après l'inoculation, dans l'intestin moyen. L'intensité de l'infestation est faible (+). Le 10^{ème} jour après l'inoculation, on observe les spores dans les corps gras et le 11^{ème} jour dans les tissus de Malpighi, suivis par les gonades le 12^{ème} jour et par la trachée, la glande séricigène et l'hémolymph le 13^{ème} jour. Les larves infestées ne présentent pas de signe extérieur visible, c'est à dire que l'infestation n'est pas apparente extérieurement, mais n'est identifiée qu'après l'examen des tissus étalés. Dans le cas de *N. bombycis*, l'infestation est apparente, les larves infestées sont de taille minuscule et leur tégument est ridé. Le stade de la spore fait sa première apparition le 6^{ème} jour après l'inoculation, dans l'intestin moyen, les corps gras et les tubes de Malpighi, avec un faible (+) niveau d'infestation. Il s'étend aux gonades, à la trachée et à la glande séricigène, à partir du 7^{ème} jour, avec un faible niveau (+) d'infestation. L'intensité de l'infestation reste constante dans les tissus infestés par *Lbms* jusqu'au début du filage, alors que dans le cas de *N. bombycis* l'intensité de l'infestation augmente dans tous les tissus, du 8^{ème} jour jusqu'au filage, sauf dans l'hémolymph, où l'infestation reste faible.

On a rapporté que plusieurs microsporidies provoquent une infestation chez le ver à soie et la plupart d'entre elles l'infestent *per os*. Le processus d'infestation commence par la germination des

spores dans l'intestin larvaire et la formation de la spore est entièrement intracellulaire (Fujiwara, 1985 ; Sato et Watanabe, 1985 ; Han et Watanabe, 1988 ; Iwashita et coll., 1990). La microsporidie pénètre dans l'hémocoel et sort de manière extracellulaire dans l'hémolymph ou de manière intracellulaire dans les cellules de tissus et d'organes variés (Tanada et Kaya, 1993). De nombreuses microsporidies vivent dans l'intestin comme des commensaux inoffensifs (Brook, 1988). On a isolé une microsporidie sp. NIK-5hm des hémocytes du ver à soie, *B. mori* (Selvakumar et coll., 2005). L'infestation par NIS-001 de *N. bombycis*, NIS-M11 de *Nosema* sp., NIS-M-12 de *Vairimorpha* sp., NIS-M14 de *Nosema* sp. et NIS-M25 de *Microsporidium*-sp chez le ver à soie sont systémiques (Fujiwara, 1980 o 1985). Ces microsporidies forment des spores environnementales dans tous les tissus et dans les organes tels que les muscles, le corps gras, la glande séricigène, les tubes de Malpighi et les gonades. Il existe aussi un développement initial des spores environnementales dans l'épithélium de l'intestin moyen par toutes ces microsporidies. NIS-001 de *N. bombycis* est très gonadotropique tandis que NIS-M11 de *Nosema* sp. est modérément gonadotropique (Han et Watanabe, 1988). *Pleistophora* sp. forme des spores environnementales uninuclées et infeste seulement l'épithélium de l'intestin moyen (Fujiwara, 1984) et *Thelohania* sp. forme une octospore seulement dans les cellules du muscle larvaire (Becnel et Andreadis, 1999).

Dans cette étude, les deux microsporidies (*Lb_{ms}* ou *N. bombycis*) sont capables d'infester tous les tissus sensibles mais *Lb_{ms}* est moins intense et son infestation est plus lente, par comparaison à celle de *N. bombycis*. On n'observe que 1 à 5 spores matures / champ microscopique. Ces différences pourraient être dues à la faible virulence ou au faible taux de multiplication des spores du parasite dans les différents tissus de l'hôte. La différence de rendement en spores pourrait être attribuée à leur virulence, au type de tissus et aussi à la température à laquelle l'hôte est élevé (Madana Mohanan et coll., 2005 ; Madana Mohanan et coll., 2006). On a rapporté une différence de virulence entre *Nosema heterosporum* et *Nosema plodia* (Kellen et Lindegren, 1974) chez les larves du papillon de la farine Indien, *Plodia interpunctella*. De même, *Nosema acridopahagus* produit moins de spores chez les sauterelles migratoires, *Melanoplus sanguinipes*, que chez le ver du maïs inoculé de manière similaire, tandis qu'on a rapporté que la production de spores est similaire chez ces insectes, quand on les inocule avec *Nosema cuneatum* (Henry et coll., 1979). A la différence de la plupart des microsporidies faiblement virulentes telles que NIS-M11, NIS-M14 de *Nosema* sp., NIS-M25 de *Microsporidium* sp, NIS-M27 de *Pleistophora* sp. et NIS-M32 de *Thelohania* sp., *Lb_{ms}* infeste les gonades et transmet la maladie des papillons mères femelles infestés à la descendance (Shabir Ahmad Bhat et Nataraju, 2005). L'infestation gonadique a un impact important sur la transmission verticale du parasite par le biais de la transmission transovarienne. Cet aspect est important pour l'industrie séricicole puisqu'il est nécessaire que les oeufs de vers à soie distribués aux fermiers soient certifiés non infestés.

Les résultats apportés par les observations de cette étude expliquent les raisons de la faible mortalité et du faible taux de transmission de *Lb_{ms}* chez le ver à soie. Ceci est le reflet de l'interaction hôte / parasite, probablement en raison de la virulence plus faible des microsporidies. *Lb_{ms}* est associée à la lignée Lamerin depuis plusieurs générations. Une adaptation du parasite à l'hôte pourrait donc s'être produite, ayant rendu la microsporidie moins virulente pour l'hôte, ce qui donne donc un rendement en spores moins important dans des tissus variés de la lignée Lamerin, du ver à soie, *Bombyx mori* L.

SOIL ORGANIC MATTER AND ITS ASSOCIATION WITH SOIL PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS AND ROOT GROWTH OF MULBERRY

S. MASILAMANI¹, S. M. H. QADRI¹, S. JAYARAJ², N. DHAHIRA BEEVI¹, A. GUHA¹ &
S. B. DANDIN³

1 Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Salem – 636 003, Tamil Nadu, India.

2. Sustainable Farm & Rural Development Centre, S.Jayaraj Research Foundation,
Chennai –600 042, Tamil Nadu, India.

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

A field study was made under a farmer-participatory research programme in S. India on the association between soil organic matter content and physicochemical properties, and development of mulberry root system. A total of 40 samples were drawn from the two depths of soil, i.e., 0-15 and 15-30 cm of mulberry fields in two clusters each located in Salem and Dharmapuri districts, Tamil Nadu, South India. The collected soil samples were separated into sand and silt + clay particles and particle size distribution was worked out. Number of mulberry roots was observed in the two depths of soil and classified into fibrous, medium thick and thick roots. The soil samples were analyzed for pH, EC, organic carbon, organic matter, available phosphorus and potassium. Against a recommended level of organic matter of 1.112 to 1.724% in the soil of mulberry garden, it was found to be merely around 0.5%. Simple correlations were worked out in all possible combinations. Significant positive correlations were observed among organic carbon, silt + clay, organic matter and number of roots at both depths of soil. Organic carbon content showed negative correlation with sand fraction of soil. Positive correlation was found between available phosphorus and number of roots at the two depths.

Keywords: Soil organic matter (SOM), soil physicochemical characters, cation exchange capacity (CEC), particle size distribution, simple correlation, Mulberry, *Morus* spp.

INTRODUCTION

Soil organic matter (SOM) is at the very core of successful farming and is vital for a healthy, living and productive soil that will sustain plant production. About 90 percent of the solid part of soil is made up of sand, silt, or clay, depending on their size. The remaining 10 percent of the solid part constitute the organic fraction of soil (Cooperband, 2002). This small part of the soil has a tremendous influence on the ability of soils to support plant growth and crop productivity. Organic matter is the vast array of carbon compounds originally created by plants, microbes, and other organisms present in the soil. These compounds play a variety of roles in nutrient, water and biological cycles. SOM determines many soil characteristics such as nutrient mineralization, soil aggregation, stability, traffic ability and suitable water uptake and retention properties (Doran *et al.* 1998). Both organic and clay particles in the soil can hold on to nutrients electro-chemically. The amount of nutrients that the organic compounds and clay could carry and make available to plants is called the cation exchange capacity (CEC) of soil. Amount of clay in the soil cannot be changed but increasing amount of organic matter in the soil can enhance the CEC. Naturally, there is much interest in managing organic matter

to make soil more productive. Almost all forms of life found in soil are dependent on organic matter for energy and nutrients. Of late, rhizosphere engineering is receiving much attention all over the world for sustainable crop production. The edaphon, if properly developed and protected, would avoid much of the root rot, white grub, termite and nematode problems. An investigation into such kinds of considerations will help place the value of organic matter in the soils of mulberry gardens in better perspective. However, the literature is rather scanty with respect to the availability of SOM and its effect on physicochemical parameters of mulberry soils. Keeping these points in view, a field study was carried out under a farmer-participatory research programme in Salem and Dharmapuri districts of Tamil Nadu, South India, and the results are presented in this paper.

MATERIALS AND METHODS

A total of 40 samples were collected from the two depths of soil, *i. e.*, 0-15 and 15-30 cm, about 30 cm away from the mulberry plant in the drip/flow irrigation line in the gardens of 20 farmers in two clusters of Salem and Dharmapuri districts, Tamil Nadu, South India. The variety of the mulberry was V-1 and the age of plantations was 5 to 8 years, with a spacing of $(120 + 90) \times 60$ cm. Planting material used was mostly 6-month old sapling. Data on number of roots present in 0-15 and 15-30 cm depth of soil were recorded and classified into feeder or fibrous (< 2 mm thick), medium thick (2.0 to 8.0 mm), thick roots (8.0 to 15.0 mm) and total number of roots. Particle size distribution in percentage was observed by using appropriate sieves for all the soil samples collected, and grouped into two categories, *i. e.*, coarse sand or sand and silt + clay using standard procedure (Dakshinamoorthy and Gupta, 1968). Soil pH and electrical conductivity (EC) were estimated by the methods described by Jackson (1973). Organic carbon (OC) was estimated as per the methods of Walkey and Black (1934). Available phosphorus and potassium contents were determined using the procedures of Olsen *et al.* (1954) and Tandon (1995). Organic matter content of the soil was estimated using Bemmelen factor (Sacheti, 1985). Mean data of two depths of soil was used for data statistical analysis. Simple correlations were worked out in all possible combinations.

RESULTS AND DISCUSSION

1) OMC in the soils of mulberry gardens:

Organic matter content (OMC) of the soil of the selected mulberry holdings ranged from 0.31 to 1.45%, which clearly indicated deficiency of organic content in the soils under study. Of the 20 farm holdings, only one was having 1.45% of organic matter, and rest had only 0.31 to 0.89%. Against a required organic matter content in the soil of mulberry garden of 1.112 to 1.724 (Dandin, 2000), it was merely around 0.5% causing much alarm to the soil and mulberry research workers. Under tropical and subtropical Indian climate, organic matter content of the soil is generally low due to high rate of decomposition. High soil temperature can cause rapid decomposition of applied organic matter. Reports also confirm that the organic matter content of Indian soils is being depleted and nutrient status is declining (Tandon, 1987; Bongale and Siddalingaswamy, 1996). This is primarily due to negative balances caused by nutrient removals, which persistently exceed nutrient additions in mulberry gardens. The amount of organic matter in soil is the result of two processes: the addition of organic matter and the loss of organic matter through decomposition. Mulberry being a perennial and deep-rooted plant, the farmers' gardens are normally maintained under lower levels of inputs and cultural operations (Bongale and Siddalingaswamy, 1996). The primary causes of organic content depletion from soils are (i) increasing pressure on each piece of land to produce more to meet the needs of an expanding population, (ii) large gap between nutrient removal and addition, and (iii) crop harvesting and residue disposal methods, which do not go in favour of nutrient recycling (Tandon, 1994). Of late, elite mulberry varieties developed could increase leaf yield from 30 t to 60 t/ha/yr, thereby resulting in increased unit area production.

Table I. Correlation among physicochemical parameters of soils and number of mulberry roots.

Tableau I. Corrélation entre les paramètres physicochimiques des sols et le nombre de racines de mûrier.

	S&C %	Sand %	Fib.roots	Mt.roots	Th.roots	Tot.roots	pH	EC	OC	OM	P	K
	% de sable											
S&C %	1											
Sand % % de sable	-0.041	1										
Fib.roots	0.770*	-0.033	1									
Mt.roots	0.390	-0.000	0.309	1								
Th.roots	0.444*	-0.371	0.388	0.543*	1							
Tot.roots	0.760*	-0.088	0.874*	0.711*	0.660*	1						
pH	0.040	-0.176	0.309	0.074	0.411	0.313	1					
EC	0.051	-0.001	-0.167	-0.267	-0.544*	-0.318	-0.331	1				
OC	0.462*	0.177	0.572*	0.180	0.111	0.482*	-0.183	-0.039	1			
OM	0.495*	0.036	0.489*	0.089	0.266	0.446*	-0.155	-0.066	0.868*	1		
P	0.564*	0.274	0.651*	0.167	0.261	0.557*	0.014	-0.288	0.827*	0.828*	1	
K	-0.557*	0.286	-0.222	-0.492*	-0.232	-0.392	0.259	-0.201	-0.031	-0.0163	0.0520	1

* Significant at 5% level of probability / Significatif au seuil de probabilité de 5 %.

S&C % = Silt & Clay (%) / Limon & argile (%); Fib. roots = Number of Fibrous roots / Nombre de racines fibreuses; Mt. roots = Number of Medium thick roots / Nbre de racines moyennement épaisses.

Th. roots = Number of Thick roots / Nombre de racines épaisses; Tot. roots = Total number of roots / Nombre total de racines;

pH = pH of the soil / pH du sol; EC = Electrical conductivity / Conductivité électrique.

OC = Organic carbon / Carbone organique; OM = Organic matter / Matière organique; P = Phosphorous / Phosphore; K = Potassium.

With the advent of new bivoltine tropical sericulture technologies, the productivity is increasing in an upward trend. At the same time, there is a change in the nature of the soil, and increased incidence of root diseases and pests, *i. e.*, root rot, white grub, termite and nematodes, which are eventually affecting adversely the yield and quality of mulberry leaf. A soil rich in SOM will support a rich and varied population of soil organism. Interaction between beneficial soil organisms and plant pathogen create situation in which pathogen are suppressed or inhibited, especially soil borne pathogens (Cooperband, 2002). The depletion of organic matter content of the soil in mulberry fields might be due to imbalance between biomass production and addition as indicated below:

Mulberry Biomass Yield (Shoot harvest):

Leaf Yield = 60 t / ha/Year @ 60-70% moisture = Dry wt. = 20 t

Shoot Yield = 40 t / ha/Year @ 40-50% moisture = Dry wt. = 20 t

Total Biomass yield = 100 t /ha/Year as Fresh wt = Dry wt. = 40 t

Input per Hectare:

FYM 25 MT @ 40 % moisture = Dry wt. = 15 t

Green manure @ 8-10 t /crop under paired row system
(2 crops/year) = 16-20 t @ 60 % moisture = Dry wt. = 6-8 t

Vermicompost (5 t /ha/year) @ 40% moisture = Dry wt. = 3 t

Total Input/ha/year = Dry wt. = 26 t

Difference between Input and Output is (- 40%) = Dry wt. = - 14 t

Natural resources are overexploited and degraded, and sericulture has been chemicalized excessively (Jayaraj, 2006). This has led to poor sustainability of sericultural production. Though the value of non-chemical methods of input in mulberry cultivation has been well recognized, very little is being adopted at field level. The farmers have depended upon the use of chemical fertilizers to a large extent in the recent past is also one of the reasons. Proper soil management without impairing soil health is the pre-requisite for achieving higher sericulture productivity. Therefore, mulberry cultivation packages need to be tuned with respect to organic input recommendation to compensate the loss of organic matter in the mulberry gardens.

2) Effect of silt and clay on organic matter content:

In the present study, there was a significant positive correlation between the clay content of soil and the organic matter content (Table 1). The silt + clay fraction of soil plays an important role, and is supported by the fact that soils high in clay content tend to have a higher organic matter content (Foth, 1984). Krishnakumar *et al.* (1990) also reported positive correlation between silt + clay and organic matter content. The combined supply of water and nutrients favors the production and accumulation of more organic matter content in finer-textured soils. Organic molecules absorbed by clay particles are partially protected from decomposition by microorganisms. The maximum organic matter content of the soil in the present study observed was 1.45%, when the silt + clay percentage was 31.5%, whereas the organic matter content was found to be low (0.31%), when the silt + clay content observed was low (14%) (Figure 1). It may be due to the fact that because of their tremendous surface area and preponderance of reactive adsorption sites, clay minerals adsorb organic matter components and hence there was positive correlation found between these two factors (Foth, 1984).

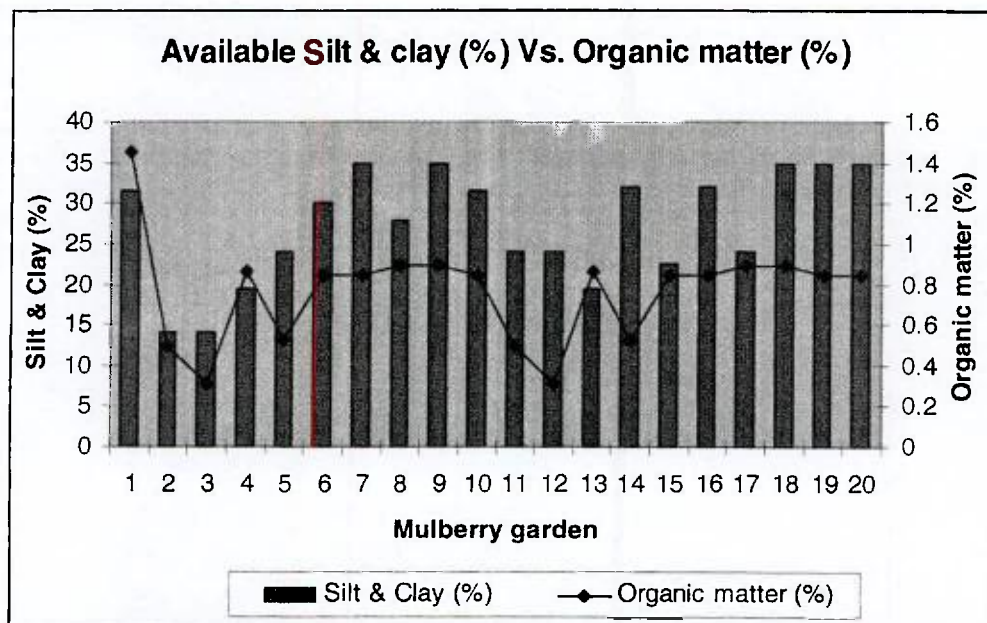


Figure 1. Silt + clay and organic matter content of the soils of 20 mulberry gardens.

Figure 1. Teneur en limon + argile et en matière organique du sol dans 20 muraies.

3) Effect of soil organic matter content on mulberry root development:

Positive and significant correlation was evident between organic matter content and number of mulberry roots from Table I. The number of roots was found to be high when the SOM content was increased, and also decrease in root population was observed when the SOM was found to be low. This could be explained as a response of applied organic matter, its ability to improve water retention and infiltration rate, soil aggregate stability, CEC and soil biological activity. The soils would serve as a better reservoir for organic acids and plant nutrients. As a consequence, the total root biomass, root length, and soil surface area have been found to influence the nutrient uptake (Raper *et al.* 1978). SOM also acts as chelating agent, binds nutrients, preventing them from becoming permanently unavailable to plants. The end result is a more favourable soil microclimate for plant root development. Therefore, the number of mulberry roots was observed to be more with increase in organic matter content of the soil.

4) Effect of sand fraction on organic matter content:

There is a negative correlation between the sand fraction and organic matter content of soil (Table I). This may be attributed to the less adsorption sites in sand particles. Fine textured soil particle like silt and clay have more surface area and more adsorption sites to hold organic matter by virtue of electrochemical bonds. On the other hand, coarser soil particles like sand due to less surface area and less adsorption sites cannot hold sufficient organic matter.

Fine textured soils like silt and clay are comparatively less well aerated and have slightly lower average temperature. This has the effect of retarding the rate of decomposition of organic matter and thereby, aiding in its accumulation (Foth, 1984). On the contrary, coarse-textured soil particles like sand and the pore space are found to be more, and hence the soil is well aerated. As a consequence,

decomposition occurs faster in well-aerated sandy soils and thereby retards the accumulation of organic matter in the soil. A sandy loam rarely holds more than 2% organic matter.

5) Effect of available phosphorus on mulberry root population:

As the content of organic matter in soil increases, the nitrogen and phosphorus contents also increase being the important constituents of organic matter (Figure 2). A higher P availability in soil could stimulate root growth and the enhancement of root growth might be beneficial for phosphorus uptake (Jian *et al.* 2005). The addition of organic matter along with phosphatic fertilizers has been found to increase the availability of applied as well as native phosphorus contents (Subramanian and Gopalaswamy, 1991). The positive and significant correlation among available phosphorus, silt + clay, total number of roots and organic matter content in the present study confirm the same (Table I).

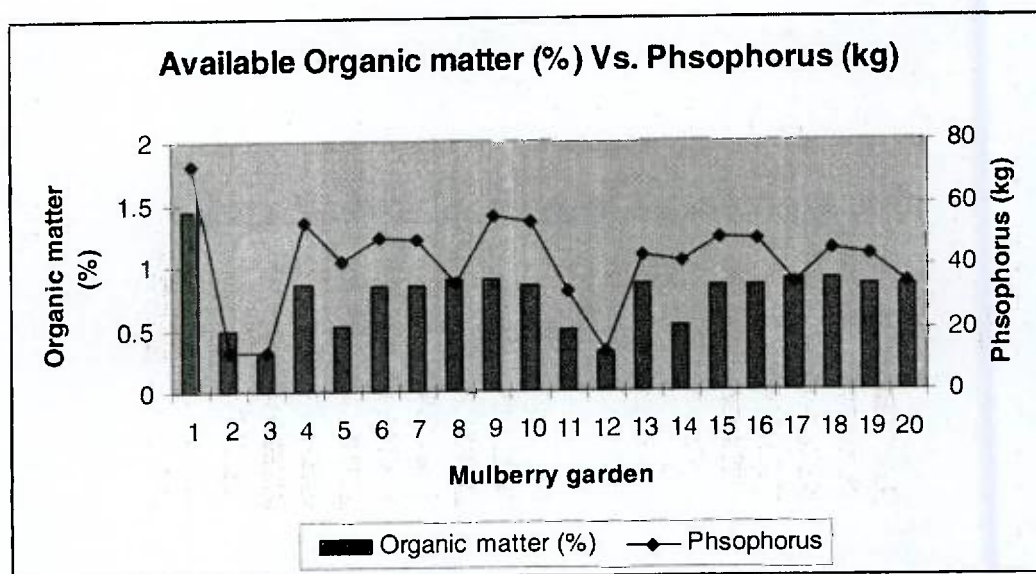


Figure 2. Organic matter and available phosphorus contents in the soil of 20 mulberry gardens.

Figure 2. Teneur en matière organique et en phosphore disponible dans le sol de 20 muraies.

CONCLUSION

The present study clearly indicated that mulberry holdings selected at random had low SOM in general. Our forefathers from time immemorial have profitably used organic manures for enhancing the soil fertility and crop productivity. Organic manures improved the physicochemical properties of soil, besides being a storehouse of nutrients. The overall influence of organic matter had been the improvement of soil bulk density, water holding capacity, porosity, aggregate stability, cation-exchange capacity and soil biological activity, as well as, serving as a reservoir for organic acids and plant nutrients such as nitrogen. The end result is a more favourable soil microclimate for plant root development and function, which in turn improve mulberry growth and leaf yield. The absence of soil organic matter and the persistent use of practices, which diminish, deplete or destroy organic matter threaten to impair soil quality and sustainability. Therefore, enhancement of organic

matter in the soil has to be done through adding compost, vermicasts, farm yard manures, intercropping with legumes or green manure cover cropping and *in situ* composting, mulching etc., to improve the soil health, thereby, improve mulberry productivity. The sustainability of mulberry farming largely depends on maintenance of favourable soil physicochemical and biological environment.

REFERENCES

- BONGALE U.D., SIDDALINGASWAMY N. (1996) Physicochemical properties of soils from major sericultural areas of Kolar and Bangalore districts, Karnataka, India. *Indian J. Seric.* 35(2):152-154.
- COOPERBAND L. (2002) Building soil organic matter with organic amendments: A resource for urban and rural gardeners, small farmers turf grass managers and large scale producers. Published by University of Wisconsin-Madison, pp.4.
- DANDIN S.B., JAYASWAL J., GIRIDHAR K. (2000) Hand book of sericulture technologies: Package of practices for mulberry cultivation under irrigated condition. Published by Central Silk Board, Bangalore, pp. 39.
- DAKSHINAMOORTHY C., GUPTA R.P. (1968) Practicals in soil physics. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.
- DORAN J.W., ELLIOTT E.T., PAUSTIAN K. (1998) Soil microbial activity, nitrogen cycling, and long term changes in organic pools as related to fallow tillage management. *Soil & Till. Res.* 49:3-18.
- FOTH H.D. (1984) Fundamentals of soil science. 7th ed. John Wiley & Sons, New York, pp. 21-168.
- JACKSON M.L. (1973) Soil chemical analysis. Prentice Hall of India, Pvt Ltd., New Delhi.
- JAYARAJ S. (2006) Integrated nutrient and pest management for sustainable sericulture. National seminar on soil health and water management for sustainable sericulture, Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Bangalore, India, pp.67.
- JIAN J., WANG G., LIU X., PAN X., HERBERT S.J. (2005) Phosphorus application affects the soyabean root response to water deficit at the initial flowering and full pod stages. *Soil Sci. Plant Nutr.* 51(7): 953-60.
- KRISHNAKUMAR, A.K., DATTA A.K. POTTY S.N. (1990). Moisture retention characteristics of soils under Hevea in India. *Indian J. Rubber Res.*, 3(1):9-21.
- OLSEN S.R., COLE C.V., WATNABLE F.S., DEAN L.A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *USDA Circ.* pp.939.
- RAPER C.D.J., OSMOND D.L., WANN M., WEEKS W.W. (1978) Interdependence of roots and shoot activities in determining nitrogen uptake rate of roots. *Bot. Gaz. (Chicago)*, 139:289-94.
- SACHETI, A.K. (1985) Soil and its properties: Introductory cum practical manual published by National Council of Educational Research and Training, New Delhi, pp. 90.
- SUBRAMANIAN S., GOPALASWAMY A. (1991) Effects of moisture, organic matter, phosphate and silicate on availability of silicon and phosphorus in rice soils. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 39:99-103.
- TANDON H.L.S. (1994) Fertilizers, organic manures, recyclable wastes and biofertilisers. Fertilizer development and consultation organization, New Delhi, pp 16.
- TANDON H.L.S. (1987) Phosphorus research and agricultural production in India. FDCO, New Delhi, pp 160.
- TANDON H.L.S. (1995) Methods of analysis of soils, plants, waters and fertilizers. FDCO, New Delhi, pp.23.
- WALKLEY A.J., BLACK I.A. (1934) An estimation of Degreffe method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, 37:29-38.

RELATION ENTRE LA MATIERE ORGANIQUE DU SOL ET LES PARAMETRES PHYSICOCHIMIQUES DU SOL ET LA CROISSANCE DES RACINES DE MURIER

S. MASILAMANI¹, S. M. H. QADRI¹, S. JAYARAJ², N. DHAHIRA BEEVI¹, A. GUHA¹ & S. B. DANDIN³

1. Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Salem – 636 003, Tamil Nadu, Inde.
2. Sustainable Farm & Rural Development Centre, S. Jayaraj Research Foundation, Chennai – 600 042, Tamil Nadu, Inde.
3. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore – 570 008, Karnataka, Inde.

Nous avons réalisé une étude sur le terrain dans le cadre d'un programme de recherche faisant participer les fermiers dans le sud de l'Inde sur la relation entre la teneur en matière organique du sol et les propriétés physico-chimiques et le développement du système racinaire du mûrier. On a extrait un ensemble de 40 échantillons à deux profondeurs de sol, c'est à dire entre 0-15 et 15-30 cm dans des muraies réparties dans deux groupes situés, dans les zones de Salem et de Dharmapuri, dans le Tamil Nadu, dans le sud de l'Inde. La distribution de la taille des particules de sable et limon + argile des échantillons de sol recueillis a été étudiée. Les racines de mûrier observées aux deux profondeurs de sol sont classées en racines fibreuses, moyennement épaisses et épaisses. Les échantillons de sol sont analysés par rapport au pH, à l'EC, au carbone organique, à la matière organique, au phosphore et au potassium disponibles. Alors que le niveau recommandé en matière organique est de 1,112 à 1,724 % dans le sol des muraies, on constate dans l'étude qu'il n'est que de 0,5 %. On calcule les corrélations simples pour toutes les combinaisons possibles. On observe les corrélations significatives entre le carbone organique, le limon + l'argile, la matière organique et le nombre de racines aux deux profondeurs du sol. La teneur en carbone organique présente une corrélation négative avec la proportion de sable dans le sol. On trouve une corrélation positive entre le phosphore disponible et le nombre de racines aux deux profondeurs.

INTRODUCTION

La matière organique du sol (SOM) est au cœur même de l'agriculture réussie et est vitale pour avoir un sol sain, vivant et productif permettant de maintenir la production de plantes. Environ 90 % de la partie solide du sol est constituée de sable, de limon ou d'argile. Les 10 % restants de la partie solide représentent la part organique du sol (Cooperband, 2002). Cette petite partie du sol a une influence énorme sur la capacité des sols à soutenir la croissance des plantes et la productivité des récoltes. La matière organique est le vaste ensemble de composés carbonés créés, à l'origine par les plantes, les microbes et d'autres organismes présents dans le sol. Ces composés jouent un ensemble de rôles dans les cycles des nutriments, de l'eau et dans les cycles biologiques. SOM détermine de nombreuses caractéristiques du sol telles que la minéralisation des nutriments, l'aggrégation du sol, la stabilité, la capacité de circulation et les capacités d'absorption et de rétention de l'eau (Doran et coll., 1998). Les particules organiques et l'argile dans le sol peuvent adhérer aux nutriments de manière électrochimique. La quantité de nutriments que les composés organiques et que l'argile peuvent transporter et rendre disponibles pour les plantes s'appelle la capacité d'échange des cations

(CEC) du sol. On ne peut pas changer la quantité d'argile dans le sol mais l'augmentation de la matière organique dans le sol peut améliorer la CEC. Naturellement, on accorde beaucoup d'attention à la gestion de la matière organique pour rendre le sol plus productif. Presque toutes les formes de vie que l'on trouve dans le sol dépendent de la matière organique pour l'énergie et pour les nutriments. Depuis quelques temps, on accorde beaucoup d'attention à la technologie de la rhizosphère dans le monde entier pour une production durable des cultures. Si on développait et on protégeait correctement l'édaphon, cela éviterait beaucoup les problèmes de pourriture de la racine, des larves blanches, des termites et des nématodes. Une étude de ce type permettrait de mettre en perspective la valeur de la matière organique du sol. Cependant, la littérature sur la disponibilité en SOM et son effet sur les paramètres physico-chimiques des sols de mûrier est plutôt rare. Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude sur le terrain dans le cadre d'un programme de recherche faisant participer les fermiers dans les zones de Salem et de Dharmapuri dans le Tamil Nadu, dans le sud de l'Inde et nous en présentons les résultats dans cet article.

MATERIELS ET METHODES

On recueille un ensemble de 40 échantillons à deux profondeurs du sol, c'est à dire entre 0 et 15 et entre 15 et 30 cm, à environ 30 cm de la ligne d'irrigation du plant de mûrier par flux / ou au goutte à goutte dans les muraies de 20 fermiers de deux groupes, situés dans les zones de Salem et de Dharmapuri, dans le Tamil Nadu, dans le sud de l'Inde. La variété de mûrier est V-1 et les plantations sont âgées de 5 à 8 ans, avec un espacement de $(120 + 90) \times 60$ cm. Le matériel est principalement constitué de plants taillés de 6 mois. On enregistre les données sur le nombre de racines présentes à une profondeur de 0-15 et de 15-30 cm et on les classe en tant que racines de réserve ou fibreuses (2 mm d'épaisseur), moyennement épaisses (2 à 8 mm), épaisses (8 à 15 mm) et on enregistre le nombre total de racines. On observe la distribution de la taille des particules en utilisant des tamis appropriés pour tous les échantillons de sol recueillis et on les regroupe en deux catégories, c'est à dire gros sable ou sable et limon + argile en utilisant une procédure standard (Dakshinamoorthy et Gupta, 1968). On estime le pH du sol et la conductivité électrique (EC), d'après les méthodes de Jackson (1973). On estime le carbone organique d'après les méthodes de Walkey et Black (1934). On détermine le phosphore disponible et la teneur en potassium en utilisant les procédures d'Olsen et coll., (1954) et Tandon (1995). On estime la teneur en matière organique du sol en utilisant le facteur de Bemmelen (Sacheti, 1985). On utilise les données moyennes sur les deux profondeurs du sol pour l'analyse statistique des données. On calcule les corrélations simples dans toutes les combinaisons possibles.

RESULTATS ET DISCUSSION

1) OMC dans le sol des muraies :

La teneur en matière organique (OMC) du sol dans les muraies sélectionnées est comprise entre 0,31 et 1,45 %, ce qui indique clairement le manque de teneur organique du sol étudié. Sur les 20 fermes, une seule présente une matière organique de 1,45 % et pour les autres, elle est seulement de 0,31 à 0,89 %. La teneur nécessaire en matière organique dans le sol de 1,112 à 1,724 (Dandin, 2000), n'est qu'autour de 0,5 %, ici. Sous un climat indien tropical et subtropical, la teneur en matière organique du sol est en général faible, en raison du taux élevé de décomposition. La température élevée du sol peut aussi provoquer une décomposition rapide de la matière organique administrée. Les rapports confirment aussi que la teneur en matière organique des sols indiens diminue et que la teneur en nutriments décline (Tandon, 1987 ; Bongale et Siddalingaswamy, 1996). Cela est principalement dû aux équilibres négatifs, provoqués par les retraits de nutriments, qui dépassent constamment les apports dans les muraies. La quantité de matière organique dans le sol est le résultat de deux processus : l'ajout de matière organique et la perte de matière organique par la décomposition.

Le mûrier étant une plante vivace, aux racines profondes, les muraies des fermiers sont normalement maintenues avec de faibles niveaux d'apports et d'opérations culturales (Bongale et Siddalingaswamy, 1996). Les causes principales de la diminution de la matière organique dans le sol sont (i) l'augmentation de la pression pour que chaque parcelle de terrain produise plus pour répondre aux besoins d'une population en expansion, (ii) un écart important entre le retrait et l'apport de nutriments et (iii) les récoltes et les méthodes d'enlèvement des résidus, qui ne favorisent pas le recyclage des nutriments (Tandon, 1994). Dernièrement, des variétés de mûrier supérieures mises au point ont permis d'augmenter le rendement foliaire de 30 t à 60 tonnes / ha / an, ce qui par là-même entraîne l'augmentation de la production par unité de surface.

Avec l'apparition de nouvelles technologies pour la sériciculture tropicale bivolte, la productivité augmente. Parallèlement, on constate un changement de la nature du sol et une augmentation de l'incidence des maladies et des insectes de la racine, comme la pourriture de la racine, les larves blanches, les termites et les nématodes, qui ont en fin de compte un effet négatif sur le rendement et la qualité de la feuille de mûrier. Un sol riche en SOM peut accueillir une population riche et variée d'organismes du sol. L'interaction entre les organismes bénéfiques du sol et le(s) pathogène(s) de la plante crée une situation où les pathogènes sont supprimés ou inhibés, surtout les pathogènes véhiculés par le sol (Cooperband, 2002). La diminution de la teneur en matière organique du sol dans les muraies pourrait être due au déséquilibre entre la production et l'ajout de biomasse comme on le montre ci-dessous :

Rendement en biomasse de mûrier (Récolte de pousses) :

Rendement foliaire = 60 t / ha / an

à raison de 60 - 70 % d'humidité = poids sec = 20 t

Rendement en pousses = 40 t / ha / an

à raison de 40 - 50 % d'humidité = poids sec = 20 t

Rendement total en biomasse = 100 t / ha / an

en tant que poids frais = poids sec = 40 t

Apport par hectare :

Fumier 25 t à raison de 40 % d'humidité = poids sec = 15 t

Engrais verts à raison de 8 à 10 t / récolte avec
un système à deux rangées

(2 récoltes / an) = 16 - 20 t à raison de 60 % d'humidité = poids sec = 6-8 t

Vermicompost (5 t / ha / an) à raison de 40 % d'humidité = poids sec = 3 t

Apport total / ha / an = poids sec = 26 t

La différence entre l'apport et le rendement est de (- 40 %) = poids sec = - 14 t

Les ressources naturelles sont surexploitées et dégradées et on utilise trop de produits chimiques en sériciculture (Jayaraj, 2006). Cela a eu pour conséquence une mauvaise durabilité de la production séricicole. Bien qu'on ait reconnu la valeur des méthodes d'apports non chimiques dans la culture du mûrier, elles sont très peu adoptées sur le terrain. L'une des raisons est que, jusqu'à récemment, les fermiers ont dépendu, dans une large mesure, de l'utilisation des engrais chimiques. La gestion correcte des sols sans altérer la santé du sol est l'une des conditions nécessaires pour atteindre une productivité séricicole plus élevée. Il faut donc que l'on adopte des systèmes de culture du mûrier,

qui suivent les recommandations en matière d'apports biologiques, pour compenser la perte en matières organiques dans les muraies.

2) Effet du limon et de l'argile sur la teneur en matière organique :

Dans cette étude, il y a une corrélation positive significative entre la teneur en argile du sol et la teneur en matière organique (Tableau I). La proportion de limon + argile dans le sol joue un rôle important et le fait que les sols avec une teneur élevée en argile tendent à avoir une teneur en matière organique élevée confirme cela (Foth, 1984). Krishnakumar et coll., (1990) ont aussi rapporté une corrélation positive entre le limon + argile et la teneur en matière organique. L'apport combiné d'eau et de nutriments favorise la production et l'accumulation de plus de teneur en matière organique dans les sols à texture plus fine. Les molécules organiques absorbées par les particules d'argile sont partiellement protégées de la décomposition par les micro-organismes. Dans cette étude, la teneur maximum en matière organique que l'on observe est de 1,45 %, quand le pourcentage limon + argile est de 31,5 %, tandis que la teneur en matière organique s'avère être faible (0,31 %) quand la teneur en limon + argile est faible (14 %) (Figure 1). Cela pourrait être dû au fait qu'en raison de leur surface importante et de la prépondérance de sites d'adsorption réactifs, les éléments minéraux de l'argile adsorbent les composants de la matière organique (Foth, 1984).

3) Effet de la teneur en matière organique du sol sur le développement des racines de mûrier :

Il existe une corrélation positive et significative entre la teneur en matière organique et le nombre de racines de mûrier, d'après le Tableau I. Le nombre de racines s'avère élevé quand la teneur en SOM augmente et on observe aussi une baisse de la population de racines quand la SOM s'avère faible. Cela pourrait s'expliquer comme une réponse de la matière organique administrée, c'est-à-dire sa capacité à améliorer la rétention et le taux d'infiltration de l'eau, la stabilité d'aggrégation du sol, la CEC et l'activité biologique du sol. Les sols pourraient donc servir de meilleur réservoir des acides organiques et des nutriments des plantes. On constate donc que la biomasse totale de la racine, la longueur de la racine, et la superficie du sol ont une influence sur l'absorption des nutriments (Raper et coll., 1978). SOM agit aussi comme un agent de chélation, lie les nutriments et les empêche de devenir indisponibles de manière permanente pour les plantes. Le résultat final est un microclimat du sol plus favorable au développement de la racine du plant. On observe donc que le nombre de racines de mûrier est plus important avec l'augmentation de la teneur en matière organique du sol.

4) Effet de la proportion de sable sur la teneur en matière organique :

Il existe une corrélation négative entre la proportion de sable et la teneur en matière organique du sol (Tableau I). Cela pourrait être dû aux sites d'adsorption moins importants des particules de sable. La particule de sol à texture fine, comme le limon et l'argile, a une superficie plus importante et plus de sites d'adsorption pour maintenir la matière organique au moyen de liaisons électrochimiques. D'autre part, les particules de sols plus grossiers comme le sable, en raison de leur surface moins importante et de leurs sites d'adsorption moins nombreux, ne peuvent pas retenir suffisamment de matière organique.

Les sols à texture fine comme le limon et l'argile sont comparativement moins bien aérés et ont une température moyenne légèrement plus basse. Cela a pour effet de retarder le taux de décomposition de la matière organique et cela contribue donc à son accumulation (Foth, 1984). Au contraire, les particules de sol à texture grossière, comme le sable, sont plus grosses et le sol est donc bien aéré. En conséquence, la décomposition a lieu plus rapidement dans des sols sablonneux bien aérés et cela retarde donc l'accumulation de la matière organique dans le sol. Un terreau sablonneux contient rarement plus de 2 % de matière organique.

5) Effet du phosphore disponible sur la population de racines de mûrier :

Alors que la teneur en matière organique du sol augmente, les teneurs en azote et en phosphore augmentent aussi, puisque ce sont des constituants importants de la matière organique (Figure 2). Une présence plus importante de P dans le sol pourrait stimuler la croissance de la racine et l'amélioration de la croissance pourrait être bénéfique pour l'absorption du phosphore (Jian et coll., 2005). L'ajout de matière organique grâce aux engrais phosphatés augmente les teneurs en phosphore ajouté et naturel (Subramanian et Gopalaswamy, 1991). La corrélation positive et significative entre le phosphore disponible, le limon + l'argile, le nombre total de racines et la teneur en matière organique observée dans cette étude confirme cela (Tableau I).

CONCLUSION

Cette étude indique clairement que les muraies sélectionnées au hasard ont en général une faible SOM. Depuis des temps immémoriaux, nos ancêtres ont utilisé des engrais organiques de manière profitable pour améliorer la fertilité du sol et la productivité des cultures. Les engrais organiques améliorent les propriétés physico-chimiques du sol, tout en étant une réserve de nutriments. L'influence générale de la matière organique est l'amélioration de la densité apparente, de la capacité de rétention de l'eau, de la porosité, de la stabilité d'aggrégation, de la capacité d'échange des cations du sol et de l'activité biologique du sol, tout en servant de réservoir en acides organiques et en nutriments des plantes tels que l'azote. Le résultat final est un microclimat du sol plus favorable au développement et à la fonction des racines des plantes, ce qui, à son tour, améliore la croissance du mûrier et le rendement foliaire. L'absence de matière organique dans le sol et l'utilisation continuelle de pratiques qui diminuent ou épuisent la matière organique, menacent d'altérer la qualité et la durabilité du sol. L'amélioration de la matière organique du sol doit donc se faire en ajoutant du compost, des vermicasts, du fumier, des cultures alternées avec des légumineuses ou des engrais verts en cultures recouvrantes, du compost *in situ* et du paillage etc... pour améliorer la santé du sol et par la même la productivité du mûrier. La durabilité de la culture du mûrier dépend, en grande partie, du maintien d'un environnement physicochimique et biologique favorable du sol.

PERFORMANCE OF DRIP FERTI-IRRIGATION OR FERTILIZATION ON MULBERRY LEAF YIELD AND QUALITY

S. N. NARAYAN GOWDA, N. SIDDALINGASWAMY & R. M. SHIVAPRAKASH

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

A field experiment was conducted with furrow drip and chapin tape methods of irrigation at three nitrogen levels (50%, 75% & 100% of recommended dose of N fertilizer) in 2 plant spacings (60 × 60 cm & 120 × 60 cm) of M5 mulberry variety during the year 2001-02. Four harvests were made and bioassay was conducted for three harvest. Pooled data of four harvests recorded highest leaf yield in 60 x 60 cm spacing + drip irrigation + 100% N fertilization (35957kg/ha). The leaf yield obtained in 50% & 75% of N fertilization in drip irrigated plots at 60 × 60 cm spacing recorded more or equal to the leaf yield obtained in 75% & 100% N fertilizer applied to the furrow method. The study revealed the saving of 25% N fertilizer associated with yield and quality improvement in drip method compared to furrow method.

INTRODUCTION

Water and fertilizations are the most important resources for augmenting crop production. It is high time to manage these commodities in an efficient way in order to feed the population of the country. Most of the irrigation is done by open systems which have relatively low efficiency of water application. A higher efficiency may be gained by pressurized irrigation systems. Drip irrigation generates a restricted root system requiring frequent nutrient supply that may be satisfied by applying fertilizers in irrigation water that is by fertilization. Maximization of crop yield and quantity and minimization of leaching below the rooting volume may be achieved by managing fertilizer concentrations in measured quantities of irrigation water, according to crop requirements (Hagin and Lowengart, 1996). Mulberry is grown under varied agro-climatic conditions in India. Research and technological developments during the recent past have indicated that the yield of mulberry can be improved to about 60 metric tons per hectare per year from mere 20 metric tons per hectare per year following improved package of practices under irrigated conditions (Dandin *et al.*, 2003). The optimum productivity potential of any high yielding crop variety cannot be achieved without proper management of water, nutrients and other resources in soil (Siddaramappa, 2004). Few studies on drip fertigation available on mulberry have revealed that it is possible to save the cost of fertilizer by 20–30% (Shivakumar, 1998, Shankar *et al.*, 1996 and Siddalingaswamy *et al.*, 2004). In the light of this background the present study was undertaken.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at Karnataka State Sericulture Research & Development Institute Bangalore during 2001-02. Four crops were harvested with bioassays for 3 harvests. The soil was red sandy clay loam at a pH of 7.55 and electrical conductivity (EC) of 0.47 dS/m. Field capacity at 0 to

90 cm was 24.2% and permanent wilting point was 14.5% (pressure plate membrane apparatus method) and bulk density was 1.47 g/cm^3 (core sampler method). The experimental design was RCBD (Randomized Complete Block Design) with 18 treatments and three replications. The treatment details are as follows.

- T1 – 60 × 60 cm + furrow method + 50% N through soil application.
- T2 – 60 × 60 cm + furrow method + 75% N through soil application.
- T3 – 60 × 60 cm + furrow method + 100% N through soil application.
- T4 – 60 × 60 cm + drip method + 50% N through drip.
- T5 – 60 × 60 cm + drip method + 75% N through drip.
- T6 – 60 × 60 cm + drip method + 100% N through drip.
- T7 – 60 × 60 cm + chapin tape method + 50% N through chapin tape.
- T8 – 60 × 60 cm + chapin tape method + 75% N through chapin tape.
- T9 – 60 × 60 cm + chapin tape method + 100% N through chapin tape.
- T10 – 120 × 60 cm + furrow method + 50% N through soil application.
- T11 – 120 × 60 cm + furrow method + 75% N through soil application.
- T12 – 120 × 60 cm + furrow method + 100% N through soil application.
- T13 – 120 × 60 cm + drip method + 50% N through drip.
- T14 – 120 × 60 cm + drip method + 75% N through drip.
- T15 – 120 × 60 cm + drip method + 100% N through drip.
- T16 – 120 × 60 cm + chapin tape method + 50% N through chapin tape.
- T17 – 120 × 60 cm + chapin tape method + 75% N through chapin tape.
- T18 – 120 × 60 cm + chapin tape method + 100% N through chapin tape.

The size of the micro plot was $6\text{m} \times 4.8\text{m}$ i.e. 28.8 m^2 . The plant populations in micro plots were 80 plants at 60 × 60 cm spacing and 40 plants at 120 × 60 cm spacing. Data was collected as per crop schedule, compiled and computed for statistical analysis of the experimental plot design. Tukey's test has been conducted to differentiate among treatments.

Application of farmyard manure and cultural practices were attended as per the package of practices recommended for mulberry under irrigated conditions (Jolly, 1987). Phosphorus and potash (P&K) chemical fertilizers were applied as per the package of practices. N fertilizer (Urea) was applied through drip system (fertilization) as per the treatment (50%, 75% & 100% of recommended dose). The volume of water given to each plant was 1.5 liters/day in 60 × 60 cm spacing and 3.0 liters/day in 120 × 60 cm spacing during non rainy period. Harvesting was done by pruning for every harvest by following step up method with a basal height of 30 cm from the ground. Mulberry plants were cut once in a harvest. Totally five harvest could be done per year in shoot harvest method. Leaf yield was recorded by harvesting all the plants of the micro plot and the yield computed as kg/ha. Bivoltine hybrid was used for I & III harvest bioassay trials and NB4D2 pure one was used for the II harvest bioassay trial by adopting standard method of rearing (Jolly, 1987). After 2nd moult 100 larvae/replication were taken from chawki reared batches of larvae. Leaf was given to the worms for feeding from respective plots as per the treatments. Larval weight was recorded during V instar at maximum growth stage by weighing ten larvae together. At the time of cocoon harvesting, 25 cocoons/replication were taken for cocoon assessment on single cocoon weight and cocoon shell ratio (CSR).

RESULTS

Major observations of results of selected parameters namely, leaf yield for four harvests and leaf moisture content for 3 harvests, harvesting during the year 2001-02 with bioassay parameters such as larval weight, single cocoon weight and cocoon shell ratio for three harvests are given as follows.

Table I. Effect of N - fertilization levels on leaf yield and leaf moisture content at different plant spacings and methods of irrigation.**Tableau I. Effet des niveaux d'engrais N sur le rendement foliaire et la teneur en eau de la feuille avec des espacements des plants et des méthodes d'irrigation différents.**

Tr. No.	Treatments	Leaf yield (kg/ha) (pooled- 4 harvests)	Leaf moisture content (avg. of 3 harvests) (%)
No. de traitement	Traitements	Rendement foliaire (kg / ha) (regroupement de 4 récoltes)	Teneur en eau de la feuille (moyenne de 3 récoltes) (%)
T1	60 × 60 cm + furrow method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % de N	25,232	70.48
T2	60 × 60 cm + furrow method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % de N	28,220	70.67
T3	60 × 60 cm + furrow method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % N	30,477	71.12
T4	60 × 60 cm + drip method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % de N	28,239	71.02
T5	60 × 60 cm + drip method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N	32,372	70.25
T6	60 × 60 cm + drip method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % N	35,957	71.53
T7	60 × 60 cm + chapin tape method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 50 % de N	26,463	70.85
T8	60 × 60 cm + chapin tape method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 75 % de N	27,260	70.43
T9	60 × 60 cm + chapin tape method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 100 % de N	30,258	71.39
T10	120 × 60 cm + furrow method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % N	22,186	71.72
T11	120 × 60 cm + furrow method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % N	23,765	71.94
T12	120 × 60 cm + furrow method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % N	25,698	71.72
T13	120 × 60 cm + drip method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % de N	22,452	71.06
T14	120 × 60 cm + drip method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N	23,050	71.50
T15	120 × 60 cm + drip method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % N	24,230	70.42
T16	120 × 60 cm + chapin tape method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 50 % N	20,061	69.22
T17	120 × 60 cm + chapin tape method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 75 % N	21,451	70.50
T18	120 × 60 cm + chapin tape method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 100 % N	22,411	70.92
	F - test	HS	NS
	Tukey's hsd - At 5%	7191	-
	At 1%	8428	-
	SD (Standard Deviation) / Ecart type	2334	2.46
	SE (Standard Error) / Intervalle de confiance	1347	0.82

Table II. Effect of N fertilization levels on rearing (bioassay) parameters at different plant spacings and methods of irrigation (average of 3 harvests) for silkworm strains bivoltine hybrid (I & III harvest) and NB4D2 (II harvest).

Tableau II. Effet des niveaux d'engrais N sur les paramètres d'élevage (évaluation biologique) avec des espacements des plants et des méthodes d'irrigation différents (moyenne de 3 récoltes) pour des souches de vers à soie hybride bivoltin (récoltes I et III) et NB4D2 (2^{ème} récolte).

Tr. No.	Treatments	Weight of 10 larvae	Single cocoon	Cocoon shell ratio
No. de traitement	Traitements	Poids de 10 larves (g)	Poids d'un cocon (g)	Richesse soyeuse (CSR %)
T1	60 × 60 cm + furrow method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % N	31.16	1.35	18.79
T2	60 × 60 cm + furrow method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % de N	32.66	1.43	20.19
T3	60 × 60 cm + furrow method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % de N	33.56	1.55	20.45
T4	60 × 60 cm + drip method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % de N	30.13	1.25	18.15
T5	60 × 60 cm + drip method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N	31.70	1.42	19.07
T6	60 × 60 cm + drip method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N	32.53	1.46	20.85
T7	60 × 60 cm + chapin tape method + 50% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 50 % de N	31.40	1.30	19.35
T8	60 × 60 cm + chapin tape method + 75% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 75 % de N	32.70	1.43	20.57
T9	60 × 60 cm + chapin tape method + 100% N / 60 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 100 % de N	33.90	1.55	21.07
T10	120 × 60 cm + furrow method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % de N	30.30	1.43	18.78
T11	120 × 60 cm + furrow method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % de N	31.23	1.46	19.97
T12	120 × 60 cm + furrow method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % de N	33.10	1.53	20.85
T13	120 × 60 cm + drip method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % N	31.13	1.45	18.90
T14	120 × 60 cm + drip method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N	32.70	1.49	19.25
T15	120 × 60 cm + drip method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N	34.30	1.59	21.60
T16	120 × 60 cm + chapin tape method + 50% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 50 % de N	32.16	1.28	18.98
T17	120 × 60 cm + chapin tape method + 75% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 75 % de N	32.46	1.45	19.92
T18	120 × 60 cm + chapin tape method + 100% N / 120 × 60 cm + méthode de l'adhésif chapin + 100 % de N	32.70	1.49	21.28
	F-test	HS	HS	HS
	Tukey's hsd - At 5%	1.37	0.20	2.82
	At 1%	1.62	0.24	3.32
	SD (Standard Deviation / Ecart type)	0.12	0.82	1.68
	SE (Standard Error / Intervalle de confiance)	0.04	0.27	0.56

Leaf yield (pooled of 4 harvests) (Table I) :

The highest leaf yield was recorded in the treatment T6 (60 x 60cm + drip method + 100% N through drip) (35,957 kg/ha) and lowest leaf yield was recorded in the treatment T16 (120 x 60cm + chapin tape method + 50% N through chapin tape) (20,016kg/ha). Highly significant treatment differences were observed among the treatments.

Leaf moisture content (Average of 3 harvests) (Table I) :

There were non significant differences recorded among the treatments. However highest leaf moisture content was recorded on 100% N levels as compared to 50% N levels in all the treatments.

Rearing parameters (Average of 3 bioassay trials) (Table II) :

Highest larval weight (34.30g), single cocoon weight (1.59g) and cocoon shell ratio (21.60%) were recorded in the treatment T15 (120 x 60 cm + drip method + 100% N through drip) and lowest larval weight (30.13g), single cocoon weight (1.25g) and cocoon shell ratio (18.15%) were recorded in the treatment T4 (60 x 60 cm + drip method + 50% N through drip). Highly significant treatment differences were observed among all the rearing parameters.

DISCUSSION

In the present study N- fertilization was done at three levels (50%, 75% & 100% of recommended dose) through drip and chapin tape methods. In furrow method nitrogen fertilizer was applied at 50%, 75% & 100% of recommended dose and phosphorus and potash (P&K) fertilizers were applied as per the package of practices (Jolly, 1987). Results obtained indicated that drip irrigated plots with 60 x 60 cm at 100% N fertilizer performed better and an increase of 15% leaf yield as compared to furrow method was recorded. The leaf yield at 50% and 75% N fertilization with drip method in 60 x 60 cm is more or equal to the leaf yield obtained in the 75% & 100% N fertilizer applied with the furrow method. This shows a saving of 25% N fertilizer with drip fertirrigation. Shivakumar (1998) reported that fertilizer applied treatment with furrow irrigation gave lower leaf yield (14,895 – 30,608 kg/ha/yr) compared to the ferti drip at 0.6 IW (Irrigation Water) / CPE (Cumulative Pan Evaporation)(21,461 – 40,461 kg/ha/yr) or 0.8 IW/CPE(21,239- 41,635 kg/ha/yr). Shankar *et al.* (1996) on mulberry leaf yield have given similar reports. In the rearing parameters highest larval weight, single cocoon weight and CSR% were recorded in the treatment 60 x 60 cm spacing with 100% drip fertigation. Shivakumar *et al.* (1998) reported that cocoon and silk yield were increased over fertilizers applied treatments with furrow irrigation by 1.44 to 5.66% and 3.88 to 11.1% respectively and also reported that in mulberry cultivation, application of high grade water soluble fertilizers (WSF) particularly under drip system can save the cost of fertilizers by 20-30% and save the water by 30-40%. Similar results have been reported on other crops (Bussi *et al.*, 1991, Dasberg *et. al.*, 1983).

CONCLUSION

It is concluded that the effect of N fertirrigation was better in 60 x 60 cm spacing i.e. 25% saving of fertilizer with an increase of 15% leaf yield over furrow method. In the bioassay study the performance of N fertilized plots are better for larval weight, single cocoon weight and CSR% than furrow method in 60 x 60 cm spacing. The study revealed a saving of 25% N fertilizer associated with improvement in leaf yield and quality with drip system compared to furrow method.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the authorities of the Institute for the facilities and statistical officer for the statistical analysis.

REFERENCES

- BUSSI C., HUGUEL J.G. & DEFRANCE H. (1991) Fertilization scheduling in peach orchards under trickle irrigation. *Journal of Hort. Sci.*, 66(4) : 487-493.
- DANDIN S.B., JAYASWAL J. & GIRIDHAR K. (2003) Hand book of Sericulture Technology, Central Silk Board, Bangalore, India, pp. 1-259.
- DASBERG S., BIELORAI H. & ERNER J. (1983) Nitrogen fertigation of Shamouti oranges. *Plant and soil* 75, 41-49.
- HAGIN L. & LOWENGART A. (1996) Fertigation for minimizing Environmental pollution by fertilizers. *Fertilizer Research* 43 : 1-3, 5-7.
- JOLLY M.S (1987) Appropriate sericulture techniques. Central Sericultural research and Training Institute, Mysore, India. pp-175.
- SHANKAR M.A., KRISHNA BABU K.S., JAYARAMAIAH M. & CHOWDEGOWDA M. (1996) Leaf yield and quality of mulberry as influenced by nitrogen fertigation. All India Seminar on modern irrigation techniques. Bangalore, June 26-27, 1996.
- SHIVAKUMAR H.R. (1998) Effect of fertigation on growth, leaf yield and quality on mulberry and its impact on silk. Ph.D. thesis, UAS, Bangalore.
- SIDDALINGASWAMY N., BONGALE U.D, NARAYAN GOWDA S.N., & SHIVAPRAKASH R.M. (2004) A study on the suitability of micro irrigation systems on mulberry leaf yield and silkworm rearing. *Sericologia*, 44/3 : 361- 367.
- SIDDARAMAPPA R. (2004) Soil health and nutrient management. Operational methodology and package of practices in organic farming. National Seminar, APOF, Bangalore, India, pp 13-14.

EFFET DE LA FERTILISATION PAR GOUTTE A GOUTTE OU DE L'APPLICATION D'ENGRAIS SUR LE RENDEMENT FOLIAIRE ET LA QUALITE DU MURIER

S. N. NARAYAN GOWDA, N. SIDDALINGASWAMY & R. M. SHIVAPRAKASH

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

Nous avons réalisé une expérience sur le terrain avec des méthodes d'irrigation des sillons, au goutte à goutte et avec le ruban Chapin avec trois niveaux d'azote (50 %, 75 % et 100 % de la dose d'engrais recommandée) et deux espacements des plants (60 × 60 cm et 120 × 60 cm) avec la variété de mûrier M5 pendant l'année 2001-02. On a procédé à quatre récoltes et à une évaluation biologique pour trois récoltes. Les données regroupées pour les quatre récoltes indiquent le rendement foliaire le plus élevé avec l'espacement de 60 × 60 cm + irrigation au goutte à goutte + 100 % d'engrais N (35 957 kg /ha). Le rendement foliaire obtenu avec 50 % et 75 % d'engrais N pour les parcelles irriguées au goutte à goutte, avec un espacement de 60 × 60 cm indique un rendement foliaire supérieur ou égal à celui obtenu avec 75 % et 100 % d'engrais appliqué dans la méthode des sillons. L'étude révèle une économie d'engrais N de 25 %, associée à une amélioration du rendement et de la qualité, avec la méthode du goutte à goutte, comparée à la méthode d'irrigation des sillons.

INTRODUCTION

L'eau et les engrais sont les ressources les plus importantes pour augmenter la production des cultures. Il est grand temps de gérer ces produits de base, d'une manière efficace, afin de nourrir la population du pays. La plupart du temps, l'irrigation se fait par des systèmes ouverts, qui sont relativement peu efficaces pour l'apport d'eau. On pourrait améliorer l'efficacité grâce à des systèmes d'irrigation pressurisés. L'irrigation au goutte à goutte donne un système racinaire restreint, qui nécessite un apport fréquent de nutriments, auquel on peut répondre en apportant des engrais dans l'eau d'irrigation, c'est à dire par la fertilisation. On peut obtenir la maximisation du rendement et de la quantité des récoltes et minimiser l'élimination par la filtration en dessous du volume de racinement, par la gestion des concentrations d'engrais en quantités mesurées dans l'eau d'irrigation, en fonction des besoins des cultures (Hagin et Lowengart, 1996). On cultive le mûrier dans un ensemble de conditions agro-climatiques variées en Inde. La recherche et les développements technologiques récents ont montré qu'on peut améliorer le rendement du mûrier, de seulement 20 tonnes par hectare par an à environ 60 tonnes par hectare par an, en suivant un ensemble de pratiques améliorées dans des conditions d'irrigation (Dandin et coll., 2003). On ne peut pas atteindre le potentiel de productivité optimal chez n'importe quelle variété de culture à haut rendement, sans une gestion correcte de l'eau, des nutriments et des autres ressources du sol (Siddaramappa, 2004). Quelques études sur la fertigation au goutte à goutte chez le mûrier ont révélé qu'il est possible de faire une économie sur le coût des engrais de 20 à 30 % (Shivakumar, 1998, Shankar et coll., 1996 et Siddalingaswamy et coll., 2004). A la lumière de ces éléments, nous avons entrepris cette étude.

MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée au *Karnataka State Sericulture Research & Development Institute*, à Bangalore en 2001 — 02. On a procédé à quatre récoltes, en réalisant des évaluations biologiques pour 3 récoltes. Le sol est du terreau d'argile sablonneux rouge au pH de 7,55, avec une conductivité électrique (CE) de 0,47 dS/m. La capacité du terrain de 0 à 90 cm est de 24,2 %, le point de flétrissement permanent est de 14,5 % (méthode de plaques de pression à membranes) et la densité apparente est de 1,47 g / cm³ (méthode d'échantillonnage central). On utilise la conception expérimentale RCBD (Conception en Blocs Complètement Aléatoires) avec 18 traitements et trois répétitions. Les caractéristiques des traitements sont les suivants :

- T1 — 60 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % de N par application dans le sol.
- T2 — 60 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % de N par application dans le sol.
- T3 — 60 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % de N par application dans le sol.
- T4 — 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % N par le goutte à goutte.
- T5 — 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N par le goutte à goutte.
- T6 — 60 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N par le goutte à goutte.
- T7 — 60 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 50 % de N par le ruban Chapin.
- T8 — 60 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 75 % N par le ruban Chapin.
- T9 — 60 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 100 % N par le ruban Chapin
- T10 — 120 × 60 cm + méthode des sillons + 50 % de N par application dans le sol
- T11 — 120 × 60 cm + méthode des sillons + 75 % de N par application dans le sol.
- T12 — 120 × 60 cm + méthode des sillons + 100 % de N par application dans le sol.
- T13 - 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % de N par le goutte à goutte.
- T14 — 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 75 % de N par le goutte à goutte.
- T15 — 120 × 60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N par le goutte à goutte.
- T16 — 120 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 50 % de N par le ruban Chapin.
- T17 — 120 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 75 % de N par le ruban Chapin.
- T18 — 120 × 60 cm + méthode du ruban Chapin + 100 % de N par le ruban Chapin.

La taille de la micro parcelle est de 6 m × 4,8 m c'est à dire 28,8m². Dans les micro-parcelles, les plantations sont de 80 plants avec un espacement de 60 × 60 cm, et de 40 plants avec un espacement de 120 × 60 cm. On recueille les données d'après le calendrier des récoltes, on les rassemble et on les enregistre sur ordinateur pour l'analyse statistique. On réalise le test de Tukey pour différencier les différents traitements.

On procède à l'application de fumier et aux pratiques culturales, d'après l'ensemble des pratiques recommandées pour le mûrier dans des conditions d'irrigation (Jolly, 1987). On applique les engrais chimiques de phosphore et de potassium (P & K), selon les pratiques recommandées. On applique l'engrais azoté (urée) avec le système au goutte à goutte (fertilisation), en fonction du traitement (50 %, 75 % et 100 % de la dose recommandée). Le volume d'eau apporté à chaque plant est de 1,5 litres / jour, avec un espacement de 60 × 60 cm et de 3 litres / jour avec l'espacement de 120 × 60 cm, pendant la saison sèche. On procède à la récolte en taillant, à chaque récolte, à une hauteur basale à 30 cm du sol. On taille les plants de mûrier une fois par récolte. Au total, on peut procéder à cinq récoltes par an. On enregistre le rendement foliaire en recueillant tous les plants de la microparcelle et on calcule le rendement en kg / ha. On utilise l'hybride bivoltin de ver à soie pour l'évaluation biologique de la 1^{ère} et de la 3^{ème} récolte et NB4D2 pour l'évaluation biologique de la 2^{ème} récolte, en adoptant une méthode d'élevage habituelle (Jolly, 1987). Après la 2^{ème} mue, on prend 100 larves / répétition. On alimente les vers avec les feuilles des différentes parcelles, en fonction des traitements. On enregistre le poids larvaire au 5^{ème} âge au stade de croissance maximum, en pesant dix larves

ensemble. Au moment de la récolte des cocons, on prend 25 cocons / répétition, pour l'évaluation des cocons, sur la base du poids d'un cocon et de la richesse soyeuse (CSR).

RESULTATS

Les principales observations pour les paramètres sélectionnés, c'est à dire, le rendement foliaire pour quatre récoltes et la teneur en humidité de la feuille pendant 3 récoltes, recueillies pendant l'année 2001-02 et pour les paramètres de l'évaluation biologique, tels que le poids larvaire, le poids d'un cocon et la richesse soyeuse pendant trois récoltes sont les suivants.

Rendement foliaire (regroupement de 4 récoltes) (Tableau I) :

On enregistre le rendement foliaire le plus élevé avec le traitement T6 (60×60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N par le goutte à goutte) (35,957 kg / ha) et le rendement foliaire le plus faible avec le traitement T16 (120×60 cm + méthode du ruban Chapin + 50 % de N par le ruban Chapin) (20 016 kg / ha). On observe des différences très significatives entre les traitements.

Teneur en humidité de la feuille (moyenne de 3 récoltes) (Tableau I) :

On n'enregistre pas de différence significative entre les traitements. Cependant, on enregistre la teneur la plus élevée en humidité de la feuille avec les niveaux de N à 100 %, par comparaison aux niveaux de N à 50 % pour tous les traitements.

Paramètres d'élevage (Moyenne de 3 essais d'évaluation biologique) (Tableau II) :

On enregistre le poids larvaire (34,30 g), le poids d'un cocon (1,59 g) et la richesse soyeuse (21,60 %) les plus élevés avec le traitement T15 (120×60 cm + méthode du goutte à goutte + 100 % de N par le goutte à goutte) et le poids larvaire (30,13 g), le poids du cocon (1,25 g) et la richesse soyeuse (18,15 %) les plus faibles avec le traitement T4 (60×60 cm + méthode du goutte à goutte + 50 % de N par le goutte à goutte). On observe des différences très significatives entre les traitements pour tous les paramètres d'élevage.

DISCUSSION

Dans cette étude, on procède à l'application de l'engrais N à trois niveaux (50 %, 75 % et 100 % de la dose recommandée) avec les méthodes du goutte à goutte, de l'irrigation des sillons et du ruban Chapin. Avec la méthode des sillons, on applique 50 %, 75 % et 100 % de la dose recommandée pour l'engrais azoté et on applique les engrais de phosphore et de potassium (P & K), selon l'ensemble des pratiques recommandées (Jolly, 1987). Les résultats obtenus indiquent que les parcelles à 60×60 cm d'espacement, irriguées au goutte à goutte avec 100 % d'engrais N, donnent les meilleurs résultats et une augmentation du rendement foliaire de 15 % par comparaison à la méthode des sillons. Le rendement foliaire, avec 50 % et 75 % d'engrais N avec la méthode du goutte à goutte et 60×60 cm d'espacement, est plus élevé ou égal au rendement foliaire obtenu avec 75 % et 100 % d'engrais N, appliqué avec la méthode des sillons. Cela indique une économie d'engrais N de 25 % avec la fertigation au goutte à goutte. Shivakumar (1998) a rapporté que l'application d'engrais par l'irrigation des sillons, donne un rendement foliaire inférieur (14,895 - 30,608 kg / ha / an) par comparaison à la fertigation au goutte à goutte avec 0,6 IW (eau d'irrigation) / par CPE (Evaporation Cumulative à la Bassine) (21,461 - 40,461 kg / ha / an) ou 0,8 IW / CPE (21 239 - 41 635 kg / ha / an). Shankar et coll., (1996) ont publié des rapports similaires sur le rendement foliaire du mûrier.

En ce qui concerne les paramètres d'élevage, on enregistre le poids larvaire, le poids du cocon et la richesse soyeuse les plus élevés, avec le traitement : espacement de 60×60 cm, avec 100 % de fertigation au goutte à goutte. Shivakumar et coll., (1998) ont rapporté que le rendement en cocons et en soie augmentent respectivement de 1,44 à 5,66 % et de 3,88 à 11,1 %, par comparaison à

l'application d'engrais avec une irrigation des sillons et ils ont aussi rapporté que, dans la culture du mûrier, l'application d'engrais de qualité élevée, solubles dans l'eau (WSF), particulièrement avec le système du goutte à goutte, peut faire économiser 20 à 30 % sur le coût des engrais et faire faire une économie d'eau de 30 à 40 %. On a rapporté des résultats similaires avec d'autres cultures (Bussi et coll., 1991, Dasberg et coll., 1983).

CONCLUSION

En conclusion, l'effet de la fertigation avec N est meilleur avec l'espacement de 60 × 60 cm, il représente une économie d'engrais de 25 %, avec une augmentation du rendement foliaire de 15 %, par rapport à la méthode des sillons. D'après les résultats de l'évaluation biologique, la performance de la fertigation des parcelles est meilleure pour le poids larvaire, le poids d'un cocon et la richesse soyeuse, que celle obtenue avec la méthode des sillons pour un espacement de 60 × 60 cm. L'étude révèle une économie d'engrais azotés de 25 %, associée à une amélioration du rendement et de la qualité foliaire, avec le système du goutte à goutte, par comparaison à la méthode des sillons.

FIRST REPORT ON SOME IMPORTANT ENDO-MYCOFLORA OF *ANTHEREA ASSAMENSIS*, HELFER (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE) FROM NORTH EAST INDIA

K. DAS, RANJANA DAS, PRANAB DUTTA, R. CHAKRAVORTY, P. DEB NATH*, S.A.S. RAHMAN, K. NEOG, I. SARMA & M. ISLAM*

Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat-785 700, Assam, India.

Survey was conducted to collect dead cadavers from muga silkworm growing pockets of Assam and Meghalaya in three different rearing seasons with an aim to isolate the endo- mycoflora of dead silkworm. During the survey dead cadavers were collected at three different stages i. e., 3rd, 4th and 5th form the different localities. Six different fungal species i. e., *Beauveria bassiana*, *Nigrospora oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus* spp. belonging to five different genera were isolated from the same. All these genera were found dominant in Jarua crop (November – January) with highest population count than Katia (October– November) and Chatua (February – March) muga crop. *Aspergillus* spp. was found as the most dominant fungal species recorded in all the three seasons.

Keywords: *Antherea assamensis*, dead muga silkworm, mycoflora, survey

INTRODUCTION

The golden silk producer muga silk worm, *Antherea assamensis*, Helfer is a semi domesticated endemic sericigenous insect species of North East India especially in Assam. It is a multivoltine, polyphagous insect reared generally in six crop i. e., Jarua (November -January), Chatua (February – March), Jethua (April – May), Aherua (June – July), Bhodia (August-September) and Katia (October– November) in a year. Due to outdoor nature of rearing, muga silkworms are exposed to various rigors of changing environment of the region of varied topography and thus the rearing is prone to numbers of disease and leading to crop loss (Choudhury, 1981 and Thangavelu *et al.*, 1988, Das *et al.*, 2005). Silkworm crop loss due to outbreak of disease is one of the major constraints encountered by the rearers. It accounts for 35% of crop loss (Kakoti, 2002). Though there are records on the occurrence of various diseases, systematic approach in relation to the seasonal variation of various diseases, isolation and identification of external and internal silkworm mycoflora are rare. The present study was carried out to survey on various muga growing areas of Assam and Mehghalaya to collect dead cadavers at various stages of silkworm, isolation and identification of endo-mycoflora.

* Department Plant Pathology, Assam Agricultural University, Jorhat-785 013, Assam, India

MATERIALS AND METHODS

Survey was conducted in major sericultural districts *i. e.*, Goalpara, Kamrup, Golaghat, Jorhat, Sivasagar, Dibrugarh, North Lakhimpur and Dhemaji in Assam and East Garo Hills and East Khasi hills of Meghalaya during Katia, Jarua and Chatua crops. In each district five villages were randomly considered by taking 10 random farmers from each village. During the survey data were collected from the farmers by personal interview on survey schedule. Dead worms of 3rd, 4th and 5th stage were collected separately in sterile oven dried screw capped tube for each location. Collected samples were surface sterilised with 0.1% HgCl₂ and then rinsed with sterile distilled water twice. A total 241 samples collected from different seasons and localities were tried for isolation of endo-mycoflora on Potato Dextrose Agar (PDA) medium aseptically. Colony growth was observed at an interval of 24 hrs up to 4 days of incubation at 25 ± 1 °C in BOD incubator. Isolated colonies were counted and separated by single hyphal tip culture and single spore isolation method. The cultures are maintained by periodical and timely sub culturing of the organism. Isolated colonies were identified as per description of the Manual of Microbiological Methods (Society of American Bacteriologist). "A Manual of Soil fungi" by Gilman (1995) and Illustrated Genera of Imperfect fungi by Burnet and Hunter (1987). Isolated and purified micro-organisms were sent for further confirmation up to species level to National Centre for Fungal Taxonomy (NCFT), Indian Agricultural Research Institute (Pusa), New Delhi, India for identification.

RESULTS AND DISCUSSION

Endo-mycoflora isolated from dead silkworm larvae collected at three different stages of muga silkworm from various locations resulted in six different types of mycoflora. On the basis of cultural and microscopical characteristic the isolated fungi were grouped into six different genus. The fungi were identified and confirmed by NCFT, New Delhi as *Beauveria bassiana*, *Nigrospora oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, sterile fungi, *Aspergillus* spp. (Table I). The result of quantification analysis of endo mycoflora of muga silkworm in different seasons showed that maximum endo-mycoflora population including all the mentioned genera were recorded in Jarua crop (264 nos) followed by two genera in Katia (127 nos) and Chatua crop (51 nos). Maximum mycoflora population was recorded at 5th stage of silkworm and least in 3rd stage. Endo-mycoflora population at 4th stage was in between the population recorded at 5th and 3rd stage. *Aspergillus* spp. was found as most dominant species and occurs in all the three seasons. In Katia crop *Penicillium* and *Aspergillus* were found as dominant endo-mycoflora in all the three stages of silkworm. *Fusarium* and *Aspergillus* were found to be dominant during Chatua crop. Highest mycoflora population with different genera were recorded in Jarua crop, which might be due to the low temperature with high humidity which are congenial for the mycoflora growth of internal body surface of the silkworm. The variation in isolation of different mycoflora in different crop season might be due to difference in abiotic factors. Tiwari and Sahu (1989, 1987) reported that environmental factors are most important physical factors which determine occurrence of micro-organism. Occurrence of *Aspergillus* spp in all the surveyed season might be due to prevalence of *Aspergillus* spores in the air on plantation and their ability to colonize the surface of worm.

The result of the present study has indicated that the occurrence of different endo-mycoflora population of muga silk worm is dependent on environmental condition in different seasons. This is the first report of such investigation from this region on muga silk worm.

Table I. Occurrence of different endo-mycoflora in dead cadavers of muga silkworm (*Antheraea assamensis* Helfer) in different rearing season

Tableau I. Présence de différentes endo-mycoflores dans des cadavres du ver à soie muga (*Antheraea assamensis* Helfer) pendant différentes saisons d'élevage.

Mycoflora	Number of colonies isolated Nombre de colonies isolées								
	Katia			Jarua			Chatua		
	3 rd stage 3 ^{ème} âge	4 th stage 4 ^{ème} âge	5 th stage 5 ^{ème} âge	3 rd stage 3 ^{ème} âge	4 th stage 4 ^{ème} âge	5 th stage 5 ^{ème} âge	3 rd stage 3 ^{ème} âge	4 th stage 4 ^{ème} âge	5 th stage 5 ^{ème} âge
<i>Beauveria bassiana</i>	-	-	-	11	9	7	-	-	-
<i>Nigrospora oryzae</i>	-	-	-	7	10	13	-	-	-
<i>Fusarium moniliforme</i>	-	-	-	17	14	6	-	9	13
<i>Penicillium chrysogenum</i>	7	9	13	8	15	14	-	-	-
<i>Penicilium digitatum</i>	11	13	16	17	10	12	-	-	-
Sterile fungi with slow growth Champignons stériles à la croissance lente	-	-	-	6	5	8	-	-	-
<i>Aspergillus</i> spp	19	21	18	21	25	29	-	14	15
Total	37	43	47	87	88	89	-	23	28

ACKNOWLEDGEMENT

The support from Department of Biotechnology, New Delhi to carry out the above work under the project entitled "Identification, characterisation and diagnosis of some important muga silkworm diseases" is duly acknowledged.

REFERENCES

- BURNETT H. L. & HUNTER, B. B. (1987). Illustrated genera of imperfect fungi. (Fourth Edition) Macmillan Publishing Campus N.Y., Collar Macmillan Publishers London, pp 216.
- DAS K., BORAH A., DAS R. & CHAKRAVORTY R. (2005). Seasonal incidence of diseases in muga silkworm (*Antheraea assamensis* Helfer) in different muga growing belts. The 20th congress of the International Sericultural Commission. Pp: 259-263.
- CHOUDHURY A., GUHA, A., YADAV A., KUMARI J., UNNI, B. G. & ROY M. K. (2001). Causal organism in silkworm *Antheraea assama* Ww: isolation, characterization and its inhibition by garlic extract Phytherapic Research 15: 1-2.
- GILMAN C., JOSEPH (1995). A manual of Soil Fungi, Printwell, Jaipur (India).
- KAKATI P. K. (2002). Adoption of prophylactic measures to contain muga silkworm diseases Indian silk. 41 (1): 19-21.
- THANGAVELU K., CHAKRAVORTI A. K., & BHAGABATI A. K. (1988). Hand book of muga culture. Pp. 75-84.
- TIWARI K. L. & SAHU S. K. (1987). Effect of temperature and relative humidity on the leaf surface mycoflora of mustard (*Brassica campestris*L) Plant. Per. Sp. Mycol. Res. 1(21): 216
- TIWARI K. L. & SAHU S. K. (1989). Aerobiology of *Datura alba* L. in relation to leaf surface mycoflora Biosphere 8(2):20-27.

PREMIER RAPPORT SUR CERTAINES ENDO-MYCOFLORES IMPORTANTES D'*ANTHEREA ASSAMENSIS*, HELFER (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE) DANS LE NORD-EST DE L'INDE

K. DAS, RANJANA DAS, PRANAB DUTTA, R. CHAKRAVORTY, P. DEB NATH*,
S. A. S. RAHMAN, K. NEOG, I. SARMA & M. ISLAM*

Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh,
Jorhat - 785 700, Assam, Inde.

*Nous avons réalisé une étude pour recueillir les cadavres de vers à soie muga dans les zones d'élevage de l'Assam et du Meghalaya pendant trois saisons d'élevage différentes dans le but d'isoler l'endo-mycoflore du ver à soie mort. Pendant l'étude, on recueille les cadavres à trois stades différents, c'est à dire au 3^{ème}, au 4^{ème} et au 5^{ème} âge dans différentes localités. On a isolé six espèces différentes de champignons, c'est à dire *Beauveria bassiana*, *Nigrospora oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus* spp. appartenant à cinq genres différents. Tous ces genres dominent pendant la récolte Jarua (novembre - janvier) avec une population plus élevée que pendant les récoltes Katia (octobre - novembre) et Chatua (février - mars). L'espèce fongique *Aspergillus* spp. s'avère la plus importante et on l'enregistre pendant les trois saisons.*

INTRODUCTION

Le ver à soie muga, *Antheraea assamensis* Helfer, produisant une soie dorée est une espèce d'insecte séricigène endémique au nord-est de l'Inde, surtout dans l'Assam. C'est un insecte polyphage polyvoltin élevé en général sur six périodes annuelles, c'est à dire Jarua (novembre - janvier), Chatua (février - mars), Jethua (avril - mai), Aherua (juin - juillet), Bhodia (août - septembre) et Katia (octobre - novembre). Compte tenu de la nature de l'élevage à l'extérieur, les vers à soie muga sont exposés aux rigueurs variables de l'environnement dans la région à la topographie variée et l'élevage est donc sujet à un certain nombre de maladies et à des pertes de récolte (Choudhury, 1981 et Thangavelu et coll., 1988, Das et coll., 2005). Les pertes de récoltes de vers à soie dues aux éruptions de maladies sont l'une des principales contraintes que rencontrent les éleveurs. Elles représentent 35 % des pertes de récoltes (Kakoti, 2002). Bien qu'il existe des rapports sur la présence de maladies variées, les études sur l'approche systématique par rapport à la variation saisonnière de diverses maladies et sur l'isolement et l'identification de la mycoflore externe et interne du ver à soie sont rares. Cette recherche a été entreprise dans les diverses zones d'élevage du muga dans l'Assam et dans le Meghalaya pour isoler et pour identifier l'endo-mycoflore sur les cadavres du ver à soie à différents stades.

* Department Plant Pathology, Assam Agricultural University, Jorhat — 785 013, Assam, Inde.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé l'étude dans plusieurs zones séricicoles majeures, c'est à dire à Goalpara, Kamrup, Golaghat, Jorhat, Sivasagar, Dibrugarh, au nord de Lakhimpur et Dhemaji dans l'Assam et dans les collines du Garo à l'est et dans les collines de Khasi à l'est dans le Meghalaya pendant les récoltes Katia, Jarua et Chatua. Dans chaque zone, on prend en compte cinq villages au hasard et 10 fermiers au hasard dans chaque village. On recueille les données sur le calendrier d'étude auprès des fermiers par entretien personnel. On recueille séparément les vers morts au 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} âge en provenance de chaque lieu dans un tube stérile hermétique que l'on sèche au four. On stérilise la surface des échantillons recueillis, avec 0,1 % HgCl₂, puis on les rince deux fois avec de l'eau distillée stérile. On prend en compte au total 241 échantillons, recueillis pendant des saisons et dans des localités différentes pour l'isolement de l'endo-mycoflore sur un milieu d'agar de dextrose de pomme de terre (PDA) de manière aseptique. On observe la croissance de la colonie toutes les 24 h, jusqu'à 4 jours d'incubation à 25 ± 1° C, dans un incubateur BOD. On compte les colonies isolées et on les sépare par la culture de l'extrémité hyphale et la méthode d'isolement des spores uniques. On maintient les cultures par sous-cultures périodiques et opportunes de l'organisme. On identifie les colonies isolées d'après les descriptions du Manuel des Méthodes Microbiologiques (*Society of American Bacteriologist*) de Gilman (1995) et des Genres Illustrés des Champignons Imparfaites de Burnet et Hunter (1987). On envoie les micro-organismes isolés et purifiés pour une confirmation supplémentaire de leur identification jusqu'au niveau de l'espèce auprès du Centre National de la Taxonomie Fongique (NCFT), Institut de la Recherche Agricole Indienne (Pusa), New Delhi.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'endo-mycoflore isolée sur les larves mortes du ver à soie muga, à trois âges différents, provenant de localités variées, représente six différents types de mycoflores. Sur la base des caractéristiques culturales et microscopiques, les champignons isolés sont divisés en six genres différents. On obtient l'identification et la confirmation des champignons auprès du NCFT, à New Delhi, qui sont en l'occurrence *Beauveria bassiana*, *Nigrospora oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, des champignons stériles, *Aspergillus* spp. (Tableau I). Le résultat de l'analyse quantitative de l'endo-mycoflore du ver à soie muga pendant les différentes saisons montre qu'on enregistre la population endo-mycoflorale maximum, pour tous les genres mentionnés, pendant la récolte Jarua (au nombre de 264), suivis par deux genres pendant Katia (au nombre de 127) et pendant la récolte Chatua (au nombre de 51). On enregistre la population mycoflorale maximum pendant le 5^{ème} âge du ver à soie et la moins importante au 3^{ème} âge. La population endo-mycoflorale au 4^{ème} âge se situe entre la population enregistrée au 5^{ème} et au 3^{ème} âge. *Aspergillus* spp. est l'espèce qui domine et elle est présente pendant les trois saisons. Pendant la récolte Katia, *Penicillium* et *Aspergillus* sont les endo-mycoflores qui dominent pendant les trois âges du ver à soie. *Fusarium* et *Aspergillus* dominent pendant la récolte Chatua. On enregistre la population mycoflorale la plus importante, comprenant des genres différents, pendant la récolte Jarua, ce qui pourrait être dû à la faible température et à l'humidité élevée, qui sont propices à la croissance mycoflorale sur la surface interne du ver à soie. Le fait que les différentes mycoflores isolées varient selon les différentes saisons de récoltes pourrait être dû à différents facteurs abiotiques. Tiwari et Sahu (1989, 1987) ont rapporté que les facteurs environnementaux sont des facteurs physiques majeurs qui déterminent la présence de micro-organismes. La présence d'*Aspergillus* spp. pendant toutes les saisons étudiées pourrait être due à la prédominance des spores d'*Aspergillus* dans l'air dans la plantation et à leur capacité à coloniser la surface du ver.

Le résultat de cette étude montre que la présence de différentes populations endo-mycoflorales chez le ver à soie muga dépend des conditions environnementales pendant les différentes saisons. C'est le premier rapport de ce type dans cette région chez le ver à soie muga.

INTEGRATED TECHNOLOGY INTERVENTION: A SUCCESSFUL APPROACH IN ERI CULTURE

A. BARAH, D. MECH & R. CHAKRAVORTY

Central Muga Eri Research & Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh-785 700, Assam, India

*Eri silkworm **Samia ricini** (Donovan) is the leader of the non-mulberry 'Vanya Silk' family. Although the eri sericulture has recently crossed the horizon of North East India, it is the predominant inhabitant of this region only. Silk produced by eri silkworm has unique dual characteristics of softness and thermal property with good blending and dyeing property. At present, eri culture provides gainful occupation to nearly 150 000 families all over North East India. Although eri culture for the people of North East is valued for more of its traditional and custom obligation, rather than a profitable profession, it needs a transformation from an ethnic practice to an enterprise, from subsistence to substantial crop and from a leisure time engagement to a sericulture business. To keep pace with the changing situation, eri sericulture needs a strong technological back up from Research and Development (R&D) sector for overall economic upliftment of rural poor. Hence, it was attempted to assess the recommended technologies through integrated intervention of improved technology packages in eri culture in order to bring a perceptible change in production of eri cocoons through farmer participatory mode, ensuring greater lab to land linkage in a 'bottom up' approach. The integrated technology assessment study revealed that productivity of eri cocoons at farmers level could significantly be increased by 63.85 per cent through this approach. In addition, technology intervention could create self-sufficiency in leaf requirement of the farmers for taking at least four cocoon crops in a year besides increasing rearing capacity of individual farmer in an unit area of host plantation.*

Keywords : Eri culture, Technology Intervention, Productivity.

INTRODUCTION

Eri sericulture in India holds an indomitable distinction among other sericulture like mulberry, tasar, oak-tasar and muga due to its unique characteristics of softness and thermal property of the silk. In addition, eri silk has good blending and dyeing property too for product diversification. Eri silkworm *Samia ricini* (Donovan) primarily feeds on the foliage of castor, popularly known as 'ERA' in Assamese and as such the silkworm is named as 'ERI'. The Brahmaputra valley of Assam and its adjoining foothills in the Sub-Himalayan belt are believed to be the native place of eri. Eri silkworm is a multivoltine insect having 6-8 overlapping crops in a year depending on availability of food plants and prevalence of favourable climatic conditions. Eri culture in northeastern region of India is widely practiced among 150 000 families scattered over more than 30,000 villages, who presently contributes the Lion's share of 1448 t (77.8%) raw silk to the national non-mulberry raw silk production. Eri culture is an agro-based small-scale industry consisting of multifarious activities like food plant cultivation, silkworm rearing, spinning of yarn and weaving. It is purely a traditional and a leisure time occupation limited to meet partly the sericulture family's clothing and food need. It still remains as backward venture of rural poor and often lag behind in technology adoption mainly due to their

poor living condition. In spite of availability of many improved technology practices for eri host plant cultivation and silkworm rearing management, most of the technologies have not been practiced by the farmers due to their strong inclination to traditional practices, unawareness and often for financial constraints. The tribal people of the region are practicing eri culture mainly for their food need since eri pupae is a delicacy among them. The silk layers are used for production of spun yarn for using as warm clothing. The constraints hindering enhancement of productivity in eri culture are identified as-

- Eri culture as it exists today is highly unorganized. Since the food plants of eri silkworm grow in nature on its own, the farmers used to practice eri culture in a small scale depending on availability of foliage in nature grown plants instead of raising plantation exclusively for eri culture.
- Leaf yield of castor in irregular plantation is less than 50% against potential of 13-14 t in regular and systematic cultivation.
- Most of the eri rearers belong to poor and marginal group of the society, who do not have appropriate rearing house and do not follow the recommended technology packages due to financial hardship.
- Lack of seed organization for monitoring and channeling of seed production at various levels for quality control.

Hence, in order to bring stability in eri crops, the present study was undertaken to assess the existing improved technology components of eri host plant and silkworm rearing management in integration through farmer participatory mode, with an aim to enhance productivity for reaping rich economic dividends.

MATERIALS AND METHOD

Initially a socio-economic survey was conducted covering randomly selected 100 eri farmers of Golaghat district of Assam to record the benchmark data before technology intervention. Based on the benchmark data, altogether 20 farmers from two villages were selected for the study. The study was carried out with following 8 (eight) recommended technology packages in integration in order to improve cocoon productivity at farmers level. The technologies were-

Host Plant Management for Quality & Quantity Improvement:

1. Variety – Variety Castor NBR-1, which is high yielding cum less susceptible to pest attack.
2. Systematic plantation - 1m × 1m spacing
3. Agronomical practices- Use of NPK @ 13 gram Urea + 25 gram Single Super Phosphate + 3 gram Murate of Potash in each pit as basal dose after one month of germination followed by 2nd dose of 6.5 gram Urea per plant after 3 months of germination.
4. Top clipping – At one meter height after 2nd leaf harvest

Silkworm Rearing:

5. High yielding races - Use of microscopically examined disease free layings (dfl) of high yielding Borduar & Titabor stock.
6. Bunch system of rearing on branches in tiers.
7. Prophylactic measures in rearing against diseases and pests *i.e.* use of bleaching powder, lime, *etc.*
8. Use of box-type bamboo mountage for cocooning.

Test rearing were restricted to four crop seasons in two consecutive years, *i. e.*, May-June, July-August, September-October and January-February with 50 dfls per farmer per crop. The rearing

performance data of individual farmer after technology intervention was collected through personal contact method for comparison with benchmark data.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Socio-economic survey conducted among 100 eri farmers for recording benchmark information (Table I) revealed that majority of the farmers (78%) belong to above 30 years age group and only 44 per cent of them are literate.

Table I. Bench mark survey data on socio-economic status of the farmers (Sample size : 100 farmers).

Tableau I. Données de base de l'étude sur le profil socio-économique des fermiers (Taille de l'échantillon : 100 fermiers).

Particulars		No. of farmers
Données		Nbre de fermiers
1. Age	a) 20 – 30 years / 20 – 30 ans	22
	b) 31– 40 years / 31- 40 ans	45
	c) 41– 50 years / 41 – 50 ans	26
	d) > 50 years / 50 ans	7
2. Educational status Niveau d'éducation	a) Literate / alphabétisé	44
	b) Illiterate / analphabète	56
3. Source of income Source de revenus	a) Eri & agriculture	84
	b) Eri, agriculture & business/service	16
4. Occupational status in eri culture Profil professionnel dans l'élevage eri	a) Traditional / Traditionnel	100
	b) Newly adopted / Venant d'être adopté	0
5. Experience in eri culture Expérience de l'élevage eri	a) < 10 years / < 10 ans	8
	b) > 10 years / > 10 ans	92
6. Present carrying capacity of each rearer in terms of dfl Capacité d'élevage actuelle de chaque éleveur en termes de pontes saines		
	a) 3-5 layings / 3 – 5 pontes	83
	b) 6-10 layings / 6 – 10 pontes	15
	c) >10 layings / >10 pontes	2
7. Present productivity of cocoons per dfl at rearers level Productivité actuelle en cocons par ponte saine au niveau des éleveurs		
	a) 150-200 cocoons / 150 – 200 cocons	72
	b) 201-250 cocoons / 201 – 250 cocons	28
	c) > 250 cocoons / > 250 cocons	0

All the farmers are traditionally associated with eri culture and 92 per cent of them are having more than 10 years experience in the culture. Even though majority of the farmers are experienced in the culture, their carrying capacity of rearing in terms of dfls is too low (3-5 dfls) due to lack of own systematic plantation. Similarly, their present productivity of cocoons per dfl was estimated to be below 200 numbers among 72 per cent of the farmers.

For assessing the impact of technology intervention, sample farmers (20) were grouped into two categories, *i.e.* who produce i) less than 200 cocoons and ii) more than 200 cocoons per laying based on benchmark information on range of cocoon production as depicted in the Table II. However, after intervention of recommended technology packages in integration, the picture became quite reverse registering 95 per cent of the farmers under highest cocoon producers' range, *i.e.* more than 250 cocoons per dfl. Data revealed that while average cocoon production in four cocoon crops at farmers level before technology intervention was 196 cocoons per laying, it rose to 281 cocoons per dfl after technology intervention, recording 63.85 per cent increase in productivity.

Table II. Production pattern of sample farmers after intervention of integrated technology packages.

Tableau II. Profil de production des fermiers de l'échantillon, après le recours aux systèmes de technologie intégrée.

Particulars	Before Intervention		After intervention	
Caractéristiques	Avant le recours		Après le recours	
Range of cocoon production/ dfl (nos.) <i>Fourchette de production de cocons / ponte saine (nbres)</i>	< 200	>200	> 200	> 250
No. of cocoons/ dfl <i>Nbre de cocons / ponte saine</i> (No. of farmers) / (<i>Nbre de fermiers</i>)	189 (16)	225 (4)	240 (1)	283 (19)
Average no. of cocoon production per dfl <i>Nbre moyen de cocons produits par ponte saine</i>	196		281	
Production of cocoon shell per 100 dfls (kg) <i>Production de coques soyeuses pour 100 pontes saines (kg)</i>	6.860		11.240	

The overall impact of the intervention of integrated technology packages at farmers field has been estimated that,

- It created self-sufficiency in leaf requirement of the farmers for taking eri rearing throughout the year.
- Carrying capacity of individual farmers in terms of dfls as well as crops increased from 3-6 layings (Benchmark data) to 20-25 layings per crop and to minimum four crops in a year.
- Increased productivity of cocoons by 63.85 per cent.

Table III. Economics (Unit : Four crops/ 0.4 hectare)/year).

Tableau III. Aspects économiques (Unité : quatre récoltes / 0,4 hectare / année).

INPUTS / DÉPENSES :

Inputs Dépenses	Without technology support Sans soutien technologique (Rs.)	With technology support Avec soutien technologique (Rs.)
1. Cost of raising plantation Coût de culture de la plantation	940.00 (Land preparation by country ploughing - 3 days @Rs.100/- per day = Rs.300/- Seed sowing and intercultural operation- 8 md @ 80/- = Rs.640/-) (Préparation du sol par labourage - 3 jours à 100 Rs. / jour = 300 Rs.) Semences et opérations interculturelles - 8 md à 80 Rs = 240 Rs)	2660.00 (Land preparation by tractor = Rs.500/- Pit digging, manure/ fertilizer application, seed sowing and intercultural operation - 27md @ Rs.80/- = Rs.2160/-) (Préparation du terrain au tracteur = 500 Rs) Creusement des trous / application d'engrais, semences et opérations interculturelles - 27 md à raison de 80 Rs = 2160Rs)
2. Cost of NPK Coût du NPK (Urea / Urée : SSP:MO P= 78:100:13 kg)	Nil / Absent	1337.00
3. Cost of silkworm seeds Coût des graines de vers à soie	390.00 (200 dfls/acre/year) (600 cocoons @Re.0.25 per cocoon + 3 md @ 80/-per md) (200 Pontes saines / 0,4 ha / an) (600 cocons à raison de 0,25 Rs. / cocon + 3 md à 80 / md)	400.00 (400 dfls/acre/year) (@ Re.1/- per dfl) (400 pontes saines / 0,4 hectare / an à raison de 1 Re. / par ponte saine)
4. Labourers cost for rearing (4 crops / year) Coût des ouvriers agricoles pour l'élevage (4 récoltes / an)	8000.00 (100 md @ Rs.80/- per md) (100 md à 80 Rs. / md) Per crop: / Par récolte : Rearing / Elevage - 20 md; Harvesting / Récolte - 2 md Pupa opening / Ouverture des nymphe - 3 md	14400.00 (180 md @ Rs.80/- per md) (180 md à 80 Rs / md) Per crop : / Par récolte : Rearing / Elevage - 30 md Harvesting / Récolte - 6 md Pupa opening / Ouverture des nymphe - 9 md
5. Chemicals for prophylactic use (in lumpsum) Produits chimiques pour une utilisation prophylactique (somme forfaitaire)	Nil / Aucun	200.00

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

6. Improved box-type mountage (10% Dep. Cost of 12 nos. @ Rs.800/- each) <i>Encabanage amélioré sous forme de boîte</i> (10 % du cout de 12 unités à raison de 800 Rs l'un)	Nil / <i>Aucun</i>	960.00
7. Collection of dry leaves & preparation of 'Jali' mountage <i>Ramassage des feuilles sèches et</i> <i>préparation des encabanages " Jali "</i>	320.00 (4 md @ Rs.80/- per md) (4 md à raison de 80 Rs./ md)	Nil / <i>Aucun</i>
TOTAL INPUT DEPENSES TOTALES	9,650.00 (\$224.4)	19,957.00 (\$464.1)

Note: * Rs.= Rupees (Indian currency) / One US \$ is equivalent to Rs.43.00 / *Roupiés (monnaie indienne)* /
Un \$ US est équivalent à 43 Rs.

** md = man day (eight working hours) / *journée de travail (huit heures de travail)*

OUTPUT / RECETTES :

Outputs	Traditional	Technology adopters
<i>Recettes</i>	<i>Type traditionnel</i>	<i>Fermiers ayant recours à la technologie</i>
Cocoon production <i>Production de cocons</i>	13.72 kg (@ average 6.86 kg / 100 dfl) (à raison d'une moyenne de 6,86 Kg / 100 pontes saines)	44.96 kg (@ average 11.24 kg/ 100 dfl) (à raison de 11,24 kg / 100 pontes saines)
Pupae production <i>Production de nymphes</i>	120 kg (@ average 60 kg/ 100 dfl) (à raison d'une moyenne de 60 kg / 100 pontes saines)	300 kg (@ average 75 kg/ 100 dfl) (à raison de 75 kg / 100 pontes saines)
Return / Profit (Rs.) :		
i) from cocoons @ Rs.300/- per kg <i>des cocons à raison de 300 Rs / kg</i>	4,116	13,488.00
ii) from pupae @ Rs.50/- per kg <i>des nymphes à raison de 50 Rs / kg</i>	6,000.00	15,000.00
TOTAL OUTPUT RECETTES TOTALES	10,116.00 (\$ 235.25)	28,488.00 (\$ 662.5)
BCR	1.05	1.43

Based on input value incurred for technology intervention in plant management and silkworm rearing, cost economics has been calculated. The benefit cost ratio (BCR) after technology intervention has been calculated to be 1.43 against 1.05 for the traditional farmers. The details of the cost economics are shown in Table- III.

It has been revealed from the present study that intervention of technology packages in integration at farmers field can significantly increase the productivity of eri cocoon irrespective of season of rearing throughout the year. The findings of the present study showed conformity with the findings of Barah *et al.* in muga culture and Chole *et al.*, (1978), Ahire *et al.*, (1999) and Sunildutta and Chole (2002) in mulberry sericulture, wherein they also found that majority of the respondents belonged to high technology adopter category were the best performers. In eri sericulture, the reason for non-adoption of the improved technologies by the farmers can be attributed to their strong inclination to traditional practices, unawareness and financial constraints since most of the eri rearers belong to poor and marginal group of the society, in addition to poor network of extension for dissemination of technologies to the field.

CONCLUSION

It can be inferred from the study that non-adoption of improved technology packages by the eri rearers is the major constraint for enhancement of productivity of cocoon in eri sericulture. Hence, to ensure eri culture as an assured cash crop during all crop seasons of the year, technology intervention along with financial support to the poor and marginal farmers is the only alternative for enhancement of productivity of cocoons in eri culture for reaping rich economic benefits from the culture.

REFERENCES

- AHIRE R. D., DAKH A.M. & KULKARNI R. R. (1999) Correlation of adoption of grape cultivation practices, *Journal of Soils and Crops*. 9(1), 114-117.
- BARAH A., MECH D., HAZARIKA U. & CHAKRAVORTY R. - Crop stabilization in muga culture – *Sericologia*, 46(4), 423-431.
- CHOLE R.R., SANGLE, G.K. & CHOUKIDAR L.B. (1978) Use of information sources and adoption of improved wheat varieties. *Research Bulletin, Marathwada Agricultural University*, 2(9), 15-17.
- SUNILDUTTA J. & CHOLE R.R. (2002) A study on adoption of sericultural practices by sericulturists. *Indian Journal of Sericulture*, 41(1), 1-5.

LE SUCCES DU RECOURS AUX TECHNOLOGIES INTEGREES DANS L'ELEVAGE ERI

A. BARAH, D. MECH & R. CHAKRAVORTY

Central Muga Eri Research & Training Institute, Central Silk Board, Lahdoigarh – 785 700,
Assam, Inde.

*Le ver à soie eri **Samia ricini** (Donovan) est le leader de la famille de la « soie Vanya » non-mûrier. Bien que la sériciculture eri se soit récemment développée au-delà du nord-est de l'Inde, ce n'est que dans cette région qu'elle domine. La soie produite par le ver à soie eri est dotée de doubles caractéristiques, uniques, de douceur et de propriété thermique, ainsi que de bonnes capacités de mélange et de coloration. A présent, l'élevage eri apporte une occupation rémunératrice à presque 150 000 familles dans tout le nord-est de l'Inde. Bien que l'élevage eri soit plus apprécié pour son caractère traditionnel et culturel, qu'en tant que profession rentable par les gens du nord-est, il faudrait qu'il puisse passer d'une pratique ethnique à une entreprise, d'un élevage de subsistance à un élevage de rapport et d'une occupation de loisir à une entreprise séricicole. Pour ne pas être dépassé par les changements, la sériciculture a besoin d'un soutien technologique appuyé dans le domaine de la Recherche et du Développement (R & D), pour l'amélioration économique globale des pauvres du secteur rural. Nous avons donc essayé d'évaluer les technologies recommandées dans l'élevage eri par le recours à des systèmes de technologies intégrées, dont le but est d'apporter des changements perceptibles en matière de production de cocons eri, en faisant participer les fermiers pour assurer une plus grande liaison entre le laboratoire et faire évoluer les choses vers le haut. L'évaluation des technologies intégrées révèle que la productivité en cocons eri pourrait considérablement augmenter de 68,35 %, au niveau des fermiers, grâce à cette approche. De plus, le recours aux technologies pourrait permettre aux fermiers de devenir autosuffisants par rapport à leurs besoins en feuilles et de produire au moins quatre récoltes de cocons par an, tout en augmentant la capacité d'élevage du fermier, par unité de surface de la plantation hôte.*

INTRODUCTION

La sériciculture eri occupe une place inégalable parmi les autres types de sériciculture, comme le mûrier, le tasar, le tasar du chêne et le muga en raison des caractéristiques de douceur et de propriété thermique de sa soie. De plus, la soie eri possède de bonnes propriétés de mélange et de coloration, qui permettent une diversification des produits. Le ver à soie eri, *Samia ricini* (Donovan) se nourrit principalement de feuilles de ricin, populairement connu sous le nom « d'ERA », en Assamais et, à ce titre, on appelle le ver à soie « ERI ». On pense que la vallée du Brahmaputra dans l'Assam et ses collines adjacentes, au pied de la zone sub-himalayenne, sont le berceau de l'eri. Le ver à soie eri est un insecte polyvoltin, avec 6 à 8 récoltes, qui se chevauchent sur une année, en fonction de la disponibilité en plantes hôtes et de la présence de conditions climatiques favorables. L'élevage eri dans la région du nord-est de l'Inde, qui à présent représente la part majeure de 1 488 t de soie grège (77,8 %) sur la production nationale de soie grège non-mûrier, est largement pratiqué par 150 000 familles réparties dans plus de 30 000 villages. L'élevage eri est une industrie à petite échelle, à base agricole, constituée d'activités très variées, comme la culture de la plante hôte, l'élevage du ver à soie, le filage et le tissage. C'est une activité purement traditionnelle et de loisir, limitée à la

satisfaction partielle des besoins des familles en vêtements et en nourriture. Cela reste une entreprise, arriérée, des pauvres du secteur rural, qui est souvent à la traîne pour adopter les technologies principalement à cause des conditions de vie des pauvres. Malgré l'existence de nombreuses technologies pratiques pour la culture de la plante hôte et la gestion de l'élevage du ver à soie eri, la plupart des fermiers n'appliquent pas les technologies, à cause de leur penchant marqué pour les pratiques traditionnelles, de leur ignorance et souvent en raison de contraintes financières. Les gens des tribus de la région pratiquent l'élevage eri principalement pour leurs besoins alimentaires, puisque les chrysalides eri sont une friandise chez eux. Les couches de soie sont utilisées pour la production de fil de soie pour réaliser des vêtements chauds. Nous avons identifié les contraintes qui empêchent l'amélioration de la productivité de l'élevage eri comme suit :

- L'élevage eri, tel qu'il existe aujourd'hui, est très désorganisé. Puisque les plantes hôtes du ver à soie poussent à l'état sauvage dans la nature, les fermiers ont l'habitude de pratiquer l'élevage eri à petite échelle, en fonction de la disponibilité en feuilles des plantes poussant dans la nature, au lieu de cultiver une plantation exclusivement pour l'élevage eri.

- Le rendement en feuilles de ricin dans les plantations irrégulières est inférieur de 50 %, par rapport au potentiel de 13-14 t avec une culture régulière et systématique.

- La plupart des éleveurs eri appartiennent au groupe des pauvres et des marginaux de la société, qui n'ont pas de magnanerie adaptée et ne suivent pas les techniques recommandées, en raison de difficultés financières.

- Le manque d'organisation du grainage dans le contrôle et dans la canalisation de la production de graines, à différents niveaux, pour le contrôle de la qualité.

Nous avons donc entrepris cette étude dans le but de stabiliser les récoltes eri et pour évaluer les composantes des technologies intégrées d'amélioration de la gestion de la plante hôte et de l'élevage du ver à soie eri, faisant participer les fermiers, dont le but est d'améliorer la productivité et de dégager des profits économiques élevés.

MATERIELS ET METHODES

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude socio-économique portant sur 100 fermiers eri sélectionnés au hasard dans la région de Golaghat, dans l'Assam, pour enregistrer les données de base de l'étude avant le recours à la technologie. D'après les données de base, on a sélectionné en tout pour l'étude 20 fermiers, provenant de deux villages. On a réalisé l'étude en suivant huit systèmes de technologies intégrées pour améliorer la productivité en cocons au niveau des fermiers. Les technologies sont les suivantes :

Gestion de la plante hôte pour l'amélioration de la qualité et de la quantité :

1. Variété : Variété Ricin NBR1, qui a un rendement élevé et est peu sensible à l'attaque par les parasites.

2. Plantation systématique – espacement de 1 m × 1 m.

3. Pratiques agronomiques : Utilisation de NPK à raison de 13 grammes d'urée + 25 g de Super Phosphate Simple + 3 grammes de murate de potassium dans chaque trou, comme dose de base après un mois de germination, suivie par une deuxième dose de 6,5 grammes d'urée par plant après 3 mois de germination.

4. Taille sommitale – à un mètre de hauteur après la 2^{ème} récolte de feuilles.

Elevage des vers à soie :

5. Races à rendement élevé – Utilisation de pontes saines (dfl) examinées au microscope, des souches Borduar et Titabor, à rendement élevé.

6. Système d'élevage en étages sur des branches.

7. Mesures prophylactiques d'élevage contre les maladies et les parasites c'est-à-dire utilisation de poudre de chaux, de chaux, etc..

8. Utilisation d'encabanages sous forme de boîtes en bambou pour le coconnage.

Les tests d'élevage sont limités à quatre saisons de récoltes, pendant deux années consécutives, c'est-à-dire en mai-juin, en juillet-août, en septembre-octobre et en janvier-février, avec 50 pontes saines par fermier, par récolte. Les données sur la performance d'élevage après le recours à ces technologies sont recueillies grâce à des méthodes d'entretiens personnels et sont comparées avec les données de base.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'étude socio-économique réalisée auprès de 100 fermiers eri pour enregistrer les informations de base (Tableau I) révèle que, la majorité des fermiers (78 %) appartient au groupe d'âge des plus de 30 ans et que seulement 44 % d'entre eux sont alphabétisés.

Tous les fermiers sont associés de manière traditionnelle avec l'élevage eri et 92 % d'entre eux ont plus de 10 ans d'expérience en matière d'élevage. Bien que la majorité des fermiers ait de l'expérience en matière d'élevage, leur capacité d'élevage, en termes de pontes saines, est trop faible (3 à 5 pontes saines) à cause de l'absence systématique de leur propre plantation. De même, on estime que leur productivité en cocons par ponte saine, est inférieure à 200 pour 72 % des fermiers.

Pour évaluer l'impact du recours à la technologie, on divise les échantillons de fermiers (20) en deux catégories, c'est-à-dire i) ceux qui produisent moins de 200 cocons et ii) ceux qui produisent plus de 200 cocons par ponte, d'après les informations de base sur la fourchette de production de cocons, présentées dans le Tableau II. Cependant, après le recours aux systèmes recommandés de technologies intégrées, la situation s'inverse avec 95 % des fermiers qui se classent dans la catégorie de production la plus élevée, c'est-à-dire plus de 250 cocons / ponte saine. Les données révèlent que, tandis que la production moyenne de cocons pour quatre récoltes de cocons, au niveau des fermiers, avant le recours à la technologie est de 196 cocons par ponte, elle s'élève à 281 cocons par ponte saine après le recours à la technologie, ce qui signifie une augmentation de la productivité de 63,85 %.

On estime que l'impact global du recours aux systèmes de technologies intégrées au niveau des fermiers est :

- qu'il permet une autosuffisance par rapport à leurs besoins en feuilles pour élever l'eri pendant toute l'année.
- que la capacité d'élevage individuelle des fermiers, en termes de pontes saines, ainsi qu'en termes de récoltes, augmente de 3 à 6 pontes (données de base) à 20-25 pontes par récolte et à un minimum de quatre récoltes par an.
- que l'augmentation de la productivité en cocons est de 63,85 %.

D'après la valeur des dépenses encourues par le recours aux technologies de gestion des plantes et de l'élevage du ver à soie, on évalue le coût sur le plan économique. On calcule que le ratio coût / bénéfice (BCR), après le recours à la technologie est de 1,43 contre 1,05 pour les fermiers traditionnels. Les données sur le coût économique sont présentées dans le Tableau III.

D'après cette étude, on constate que le recours aux systèmes de technologies intégrées peut augmenter la productivité des cocons eri, au niveau des fermiers, quelle que soit la saison d'élevage pendant l'année. Les observations de cette étude sont conformes aux observations de Barah et coll.,

pour l'élevage du muga et de Chole et coll., (1978), d'Ahire et coll., (1999) et de Sunildutta et Chole (2002) pour la sériciculture mûrier, par lesquelles ils ont aussi constaté que la majorité des personnes interrogées, appartenant à la catégorie ayant adopté les technologies de pointe, obtient de meilleurs résultats. On peut attribuer la non adoption des technologies améliorées par les fermiers dans la sériciculture eri, à leur penchant marqué pour les pratiques traditionnelles, à leur ignorance et aux contraintes financières, puisque la plupart des éleveurs eri appartiennent au groupe des pauvres et des marginaux de la société, ainsi qu'au mauvais réseau de vulgarisation pour la diffusion des technologies sur le terrain.

CONCLUSION

On peut déduire de l'étude que, dans la sériciculture eri, la contrainte principale à l'amélioration de la productivité en cocons est la non-adoption des systèmes de technologies améliorées par les éleveurs eri. Pour s'assurer de l'élevage eri comme d'une culture de rapport pendant toutes les saisons de l'année, la seule alternative est le recours à la technologie et le soutien financier des fermiers pauvres et marginaux pour l'amélioration de l'élevage eri et pour dégager des profits économiques élevés.