

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

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

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef

B. MAUCHAMP
G. CHAVANCY

Managing Director
Chief Editor

COMITE DE REDACTION **EDITORIAL BOARD**

ALMEIDA J. E. (Brésil / *Brazil*)
CAPPELLOZZA S. (Italie / *Italy*)
CHEN Y. (Chine / *China*)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / *India*)
DAS B.C. (Inde / *India*)
DOIRA H. (Japon / *Japan*)
FONSECA T.C. (Brésil / *Brazil*)
FREDDI G. (Italie / *Italy*)
GOLDSMITH M.R. (USA)
GUO X. (Chine / *China*)
HE K. (Chine / *China*)
IATROU K. (Grèce / *Greece*)
JOLLY M.S. (Inde / *India*)
KOBAYASHI M. (Japon / *Japan*)
KUSAKABE T. (Japon / *Japan*)
LEA H. Z. (Corée / *Korea*)

LEGAY J.-M. (France)
MACHII H. (Japon / *Japan*)
MANO Y. (Japon / *Japan*)
MASE K. (Japon / *Japan*)
MAUCHAMP B. (France)
MIRANDA J. E. (Brésil / *Brazil*)
REALI G. (Italie / *Italy*)
SHIMURA K. (Japon / *Japan*)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / *India*)
SONWALKAR T.N. (Inde / *India*)
TAZIMA Y. (Japon / *Japan*)
TRENCZEK T. (Allemagne / *Germany*)
TZENOV P. (Bulgarie / *Bulgaria*)
VAGO C. (France)
XIA Q. (Chine / *China*)
YAMASHITA O. (Japon / *Japan*)
YUNGEN M. (Chine / *China*)

SOMMAIRE - CONTENTS

Revues / Reviews

- Management of mulberry diseases through eco-friendly approaches – a review . . . 123**
 Revue sur la lutte contre les maladies du mûrier par des approches écologiques . . . 139
 D. D. SHARMA, V. NISHITHA NAIK, N. B. CHOWDARY, MALA V. RAJAN
 & C. K. KAMBLE

- Role of botanicals in the management of mulberry pests and diseases – a review . . . 151**
 Revue sur le rôle des substances botaniques dans la lutte contre les parasites et les maladies
 du mûrier . . . 161
 TOMY PHILIP, MALA V. RAJAN & C. K. KAMBLE

- Mulberry leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae)
 and its management practices in India . . . 167**
 Pratiques de lutte contre l'enrouleur de la feuille du mûrier, *Diaphania pulverulentalis*
 (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) en Inde . . . 181
 M. MUTHUSWAMI, K. A. MURUGESH, R. KRISHNAN & G. DEVI

Rapports techniques / Technical reports

- Heterobeltiosis in F1 hybrids of wild and domesticated ecoraces of tropical tasar
 silkworm *Antheraea mylitta* Drury . . . 189**
 Hétérobeliose chez les hybrides F1 d'écoraces sauvages et domestiques du ver à soie tasar,
Antheraea mylitta Drury . . . 197
 R. MANOHAR REDDY, G. HANSDA, N. G. OHJA & N. SURYANARAYANA

- Survey of gut microflora of select Indian multivoltine and bivoltine breeds of
 silkworm *Bombyx mori* L. 201**
 Etude sur la microflore de l'intestin de lignées indiennes supérieures du ver à soie *Bombyx*
mori L. polyvoltines et bivoltines . . . 211
 P. MOHANRAJ, S. SUBRAMANIAN & M. MUTHUSWAMI

- Impact of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma harzianum* in management of
 pathogen complexity causing root rot disease in mulberry . . . 217**
 Impact de *Pseudomonas fluorescens* et de *Trichoderma harzianum* dans la lutte contre
 l'ensemble des pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le
 mûrier . . . 225
 N. B. CHOWDARY, D. D. SHARMA, MALA V. R., M. P. REDDY & C. K. KAMBLE

- Litsea glutinosa* Lour. - a new food plant of muga silkworm (*Antheraea assamensis*
 Helfer) 231**
Litsea glutinosa Lour, une nouvelle plante hôte du ver à soie muga (*Antheraea*
assamensis Helfer) 239
 BHARAT B. BINDROO, N. TIKEN SINGH & A. K. SAHU

Studies on methods adopted in winding of bivoltine and multibivoltine raw silk and its influence on tenacity and elongation	243
Etudes de l'influence des méthodes de dévidage adoptées sur la résistance et l'allongement de la soie grège bivoltine et polybivoltine	251
K. M. ABDUL KADHAR, G. HARIRAJ, SUBRATA ROY & T. H. SOMASHEKAR	

Note brève / Brief note

An improved method of androgenetic development in the silkworm <i>Bombyx mori</i> L.	255
Méthode améliorée de développement androgénétique chez le ver à soie, <i>Bombyx mori</i> L.	259
RAVINDRA SINGH, R. NIRUPAMA, D. GANGOPADHYAY & C. K. KAMBLE	

MANAGEMENT OF MULBERRY DISEASES THROUGH ECO-FRIENDLY APPROACHES – A REVIEW

D. D. SHARMA, V. NISHITHA NAIK, N. B. CHOWDARY, MALA V. RAJAN & C. K. KAMBLE

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

Mulberry (Morus spp.), a food plant of silkworm (Bombyx mori L.), is affected by many foliar and soilborne diseases caused by different types of pathogens like fungi, bacteria and nematodes and reduce the leaf yield up to 20 % besides deteriorating the leaf quality. Various cultural, chemical and non-chemical (biological and integrated) methods have been worked out for the control of these diseases. As silkworms are very sensitive to chemicals their application require the safe period for utilization of leaf. Further, chemicals cause environmental pollution, contamination of natural water resources and affect the beneficial microflora in the soil in addition to building up resistance against pathogens. Hence, there is a strong need to switch over an eco-friendly methods for managing the mulberry diseases and considerable research work has been done on these aspects. Therefore, an attempt has been made to review the available information on eco-friendly management of diseases for quality leaf production in mulberry.

Keywords: Mulberry diseases, eco-friendly approaches, fungi, bacteria, nematodes.

INTRODUCTION

During mulberry [host plant of silkworm (*Bombyx mori* L.)] cultivation, diseases are the major constraints right from the initial establishment (nursery plantation) causing severe losses to mulberry growers. The crop is vulnerable to many air and soilborne diseases caused by fungi, bacteria and nematodes. The major airborne (foliar) diseases are leaf spot, powdery mildew, leaf rust, fungal leaf blight and bacterial leaf blight. Among the soilborne (root) diseases, stem-canker, cutting rot, collar rot and die-back affect the initial establishment of mulberry plantation in nursery while root knot, root rot and root disease complex (association of nematode & root rot pathogens) affect the established plantation (Teotia and Sen, 1994; Sharma *et al.*, 2003; Sharma, 2004). These diseases reduce about 20% leaf production besides altering the nutritional status of the leaf especially the protein, which is essential for silkworms to spin quality cocoons and silk (Fukuda *et al.*, 1959; Sundareswaran *et al.*, 1988; Machii and Katagiri, 1991; Shree and Nataraja, 1993; Raju, 1998; Sharma *et al.*, 2003; Sharma, 2004; Sharma and Gupta, 2005). Feeding diseased leaves to silkworms affects the growth, development, cocoon yield and silk quality (Kumar *et al.*, 1993; Qadri *et al.*, 1998; Raju, 1998).

Various cultural, chemical and non-chemical (biological and integrated) methods have been worked out for the control of mulberry diseases (Sharma *et al.*, 2003; Sharma, 2004; Sharma and Gupta, 2005). Even today, chemicals are being commonly used for the control of mulberry diseases including nematodes. Though various chemicals have been recommended for the control of mulberry diseases (Sharma *et al.*, 2003; Sharma, 2004; Sharma and Gupta, 2005), the farmers are hesitant to use them for crop protection due to their residual toxicity on silkworm (Philip *et al.*, 1997). In addition, use of chemicals causes environmental pollution including contamination of natural water resources, affecting soil health and eco-system. Further, repeated application of the chemicals also builds up resistance against pathogens besides affecting the beneficial microbes in the soil (Davies *et al.*, 1991; Paul *et al.*, 1995; Sharma, 2005). Due to these reasons, there is a strong need to use eco-friendly

methods for managing the mulberry diseases and a lot of research work has been conducted on these aspects. Hence, this review elucidates the research so far conducted on eco-friendly management of mulberry diseases for obtaining quality leaf production.

FOLIAR DISEASES OF MULBERRY

Mulberry leaves are used for feeding silkworms and use of chemicals for disease control may not be feasible due to their possible toxicity and there is a need to use the non-chemical control of foliar diseases. The major foliar diseases and their management through ecofriendly methods are discussed below.

1. Leaf spot:

More than 25 pathogens are reported to cause leaf spot disease in mulberry. Among them, brown leaf spot caused by *Cercospora moricola* Cooke is most devastating and very common in rainy and post-rainy seasons (July - December), which reduces about 10-12% leaf yield. Temperature of 24-26° C and 70-80 % of relative humidity are most congenial for the disease development. The disease starts progressing on 35-40 Days After Pruning (DAP)/leaf harvest and becomes severe on the 70th DAP (Sharma, 2004). The disease appears as brownish irregular spots surrounded by chlorotic yellow haloes on both the leaf surfaces. Later, the spots enlarge and coalesce, leading to the formation of shot-holes. The disease spreads primarily with rain droplets (rain splash) through conidia (Teotia and Sen, 1994).

Management of Disease:

The disease occurrence can be predicted based on the available mathematical models so that timely prevention measures can be adopted. In mulberry, the crop age and meteorological parameters with severity of brown leaf spot was studied. It was observed that Days After Pruning and maximum temperature were positively correlated and significantly contributed towards the disease development. Using step down regression analysis, a double variable equation was derived for prediction of severity of brown leaf spot disease (Naik *et al.*, 2004; 2008).

Predicted severity of brown leaf spot disease (%) = $7.09 + 0.59^{**}(\text{DAP}) - 1.07^{*}(\text{Max. temp})$
with R² value of 0.86

where, DAP: Days After Pruning (favourable range; 35 - 70 days); Max. temp: Maximum temperature (favourable range; 22 - 30° C).

Further, it was suggested that during rainy and winter seasons need based preventive measures for brown leaf spot should be initiated before 45th DAP (Naik *et al.*, 2004).

Under field condition, leaf extracts of *Eucalyptus* spp. and *Calotropis gigantea* reduced the disease incidence of brown leaf spot ranging from 56-63% (Sarvamangala *et al.*, 1993). Twelve phylloplane microbes isolated from healthy mulberry leaves were screened against brown leaf spot and two bioagents viz., *T. harzianum* (Th-1) and *T. pseudokoningii* (Tp) were short listed for field evaluation. Results revealed that combined spray of Th-1 and Tp on leaves provided the reduction of disease severity up to 50.0% over the check under field condition (Sharma and Gupta, 2000). Various plant growth promoting rhizobacteria were evaluated for inducing systemic resistance in mulberry against brown leaf spot. Among them, combined soil application of *Azotobacter chroococcum* (Azc-3) and *Pseudomonas fluorescens* (Psf-4) was found to be effective to induce the systemic resistance and reduced the disease severity up to 90% at field and prevented leaf yield loss by 15% over the check (Gupta and Sharma, 2004).

With regard to chemical measure, spraying of 0.2 % Bavistin (Carbendazim 50% WP) solution on leaves has been recommended, which reduced the disease severity up to 70% and treated leaves

can be fed to silkworm safely after 2-3 days after spraying (Srikantaswamy *et al.*, 1998; Sharma, 2004).

2. Powdery mildew:

The disease is caused by a fungus *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst and also known as *P. moricola* (P. Henn.) Homma (Takamatsu *et al.*, 1982). The pathogen is a semi obligate parasite and more prevalent in tropics and temperate regions during post-rainy and winter seasons. Temperature of 24 to 28°C and relative humidity between 60-80% are optimal for disease development. It reduces the leaf yield up to 12% and diseased leaves have less moisture and protein contents (Teotia and Sen, 1994; Qadri *et al.*, 1998; Sharma, 2004). The disease spreads by conidia primarily through wind current and appears as white powdery patches on the lower surface of the leaves. The corresponding portions of white powdery patches on the other side (upper surface) of leaves develop as chlorotic lesions. On severity of disease, white powdery patches turn to brownish-black and the leaves become yellow (Sharma, 2004).

Management of disease:

The extracts of garlic (*Allium sativum*) bulbs, funicles of *Acacia auriculiformis*, neem and *Pongamia pinnata* leaves were found to be effective against powdery mildew under *in vitro* and *in vivo* conditions (Datta *et al.*, 1997; Gangwar *et al.*, 2000; Vidyasagar and Rajasab, 2001). Under field condition, leaf extracts of *Calotropis gigantea* and *Adhatoda zeylanica* reduced the disease incidence of powdery mildew ranging from 23-56% (Biswas *et al.*, 1995). Yellow ladybird beetles, *Illeis cincta* Fab. and *I. Indica* Timb. have been reported as predators for *P. corylea* causing powdery mildew in mulberry. These predators feed on conidia and mycelia of *P. corylea*. The predators fed on powdery mildew are observed to have longer life span and deprived of powdery mildew fungus as food. The fungus (*P. corylea*) does not regenerate on infected leaves cleared off by predators (Reddy *et al.*, 1989; Teotia *et al.*, 1992; Bhattacharjee *et al.*, 1994; Kumar and Chowdary, 2001). Besides, a fungus, *Cladosporium* spp. is also reported to be hyperparasitic to conidiophores and conidia of *P. corylea* on mulberry (Rao and Sullia, 1981).

Chemical method like spraying of 0.2 % Karathane (Dinocap 30% EC)/ Bavistin on the lower surface of the mulberry leaves has been found effective against powdery mildew disease, which controls the disease severity up to 65-70% and treated leaves can be fed to silkworm safely 2-3 days after spraying (Govindaiah *et al.*, 1994).

3. Leaf rust:

Mulberry is attacked by several rust pathogens (obligate parasites). Among them, black and red rusts are more common. Black leaf rust is caused by *Cerotelium fici* (Cast.) Arthur and also known as *Peridiospora mori* Barclay (Prasad *et al.*, 1993) while *Aecidium mori* (Sydow & Butler) Barclay is reported to cause the red rust. The disease occurs both in post-rainy and winter seasons causing leaf yield loss up to 15%. Other than quantitative loss, the moisture, protein and sugar contents are also reduced (Sundareswaran *et al.*, 1988; Teotia and Sen, 1994; Pratheesh Kumar *et al.*, 2000). Temperature from 22-26°C and high relative humidity more than 70% are optimal for disease development (Sharma *et al.*, 1996). The disease starts progressing on 45-50 DAP and became severe on 70th DAP and matured leaves are more prone to the disease. It spreads through uredo/aeciospores that are dispersed by wind and water current. The black leaf rust affects the mulberry leaf and appears as circular pinhead sized blackish-brown eruptive lesions on both surfaces of mulberry leaves. However, red rust affects young buds, leaves, petioles and shoots. The affected buds become swollen and curl upwards in abnormal shapes with many protruded golden yellow spots. On both the surfaces of the affected leaves, numerous small, round, shiny yellow coloured protruded spots appear in the form of powdery substance (Sharma, 2004).

Management of Disease:

Based on meteorological data, it has been noticed that Days After Pruning (DAP; favourable range; 35 – 70 days) and Average humidity (AH; favourable range 68.9 – 84.4 %) were positively correlated and significantly contributed towards the disease development. A double variable equation was derived using step down regression analysis for prediction of black leaf rust severity (Naik *et al.*, 2004; 2008a).

Predicted severity of black leaf rust disease (%) = $-66.18 + 0.80^{**}(\text{DAP}) + 0.45^{*}(\text{AH})$ with R^2 value of 0.95

Further, it was suggested that during rainy and winter seasons need based preventive measures for black leaf rust should be initiated before 45th DAP (Naik *et al.*, 2004).

Under field condition, leaf extracts of *Adhatoda zeylanica* and *Azadirachta indica* reduced the disease incidence of black leaf rust to a great extent (Biswas *et al.*, 1995). Twelve phylloplane microbes isolated from healthy mulberry leaves were screened against black leaf rust. Among them, two bioagents, *T. harzianum* (Th-1) and *T. pseudokoningii* (Tp) were found to be effective and evaluated under field condition. Combined application of Th-1 and Tp provided the reduction of disease severity up to 44.0% over the check (Sharma and Gupta, 2000). Among the various plant growth promoting rhizobacteria, combined application of *A. chroococcum* (Azc-3) and *P. fluorescens* (Psf-4) was found effective to induce the systemic resistance in mulberry against black leaf rust and suppressed the disease severity up to 68% at field and prevented leaf yield loss by 13% over the check (Gupta and Sharma, 2004).

Fungicides viz., spraying of 0.2% Kavach (Chlorothalonil 75% WP) and Blitox (Copper oxichloride 50% WP) on the leaves have been recommended for the control of black and red rust diseases, respectively and reduced the disease severity to an extent of 60-65%. Fungicide treated leaves can be fed to silkworm safely after 5 days of spraying (Gunasekhar *et al.*, 1995; Teotia *et al.*, 1994).

4. Fungal leaf blight:

The fungal leaf blight is caused by various types of pathogens like *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Fusarium pallidroseum* (Cooke) Sacc., *F. lateritium* Nees. f. sp. *mori* (Desm.) Matuo et Sato, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig et Sacc. and *Helminthosporium tetramera* Mc. Kinney. Among them, *A. alternata* and *F. pallidroseum* are most commonly observed in mulberry gardens (Teotia and Sen, 1994; Sharma *et al.*, 2005) and reduce the leaf yield loss up to 10% in addition to deteriorating the leaf quality. Temperature of 25-30° C and relative humidity of 40-60% are favourable for out break of the disease (Raju, 1998). The disease symptoms appear as browning/blackening of leaves starting either from the leaf tip or edges of leaf lamina in the form of isolated irregular brown coloured patches. As the disease spreads the entire leaf surface is affected resulting in fall of leaves (Sharma, 2004).

Management of Disease:

Bioagent such as *T. harzianum*, *T. viride* and *Gliocladium virens* are reported to be antagonistic to *A. alternata* and *F. pallidroseum* causing fungal leaf blight in mulberry (Raju, 1998). However, an isolate of *T. harzianum* (THR-2) when sprayed to mulberry plants reduced the disease incidence of both *A. alternata* and *F. pallidroseum* under field conditions to an extent of 60-65% (Raju, 1998).

Under chemical method, foliar spray of 0.2% Dithane M-45 (Mancozeb 75 % WP) has been found effective against leaf blight disease, which reduced the disease severity up to 65% and treated leaves can be fed to silkworm safely after 2-3 days of spraying (Raju, 1998).

5. Bacterial leaf blight:

It is caused by *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (Boyer & Lambert) Young, Dye & Wilkie. Further, species of *Xanthomonas* like *X. campestris* pv. *mori* (Pommel) Dowson and *X. campestris* pv. *moricola* is another series of bacterial pathogen causing leaf blight of mulberry (Sharma, 2004; Sharma *et al.*, 2005). Among them, bacterial blight caused by *P. syringae* pv. *mori* and *X. campestris* pv. *mori* are most serious during rainy and winter seasons and about 8-12% leaf yield loss is observed every year besides deteriorating the leaf quality (Sharma *et al.*, 2005). Atmospheric temperature between 20-30°C and high humidity (more than 80%) are favourable for disease development (Teotia and Sen, 1994; Gangwar and Thangavelu, 1991; 1995; Sharma *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2005).

Management of Disease:

The efficacy of various commercial plant products was tested under *in vitro* conditions against *P. syringae* pv. *mori* and *X. campestris* pv. *mori* causing bacterial blight. Among them, Neem gold (Azadirachtin 0.15% EC) gave inhibition zone up to 28.3 mm (Sharma *et al.*, 2001). The bioagents like *P. fluorescens* (Pf-2) and *T. harzianum* (Th-1) were found most effective under *in vitro* conditions against *P. syringae* pv. *mori* and *X. campestris* pv. *mori* by showing sharp inhibition zone of 26 - 28 mm (Baqual *et al.*, 2000).

Fungicide such as Dithane M-45 (0.2 %) has been reported to be effective against the bacterial blight disease (Maji *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2005) and fungicide sprayed leaves can be fed to silkworm safely after 2-3 days of spraying (Sharma, 2004).

MANAGEMENT OF FOLIAR DISEASES THROUGH HOST RESISTANCE AND CULTURAL PRACTICES

Eco-friendly approaches for the control of plant diseases are safe alternatives to fungicides. The use of host resistance, cultural/ agronomical practices and phytosanitary measures are important in this direction as they are non toxic and environmentally safe.

1. Host resistance:

Planting of resistant varieties against diseases is the best approach to avoid the crop loss in mulberry. So far, less attention has been paid for disease resistance breeding in mulberry. Various workers (Philip *et al.*, 1994; Gangwar and Thangavelu, 1995; Prasad *et al.*, 1999; Sharma, 2004) have screened several mulberry varieties to identify the source of resistance/susceptibility against major foliar diseases that may be useful for breeding programme for evolving the resistant varieties. None of the variety/genotype was found to be completely resistant against foliar diseases of mulberry. The popular mulberry varieties and their reactions to major foliar diseases are given in Table-I.

2. Use of cultural practices:

Various cultural/agronomical practices such as plant spacing, pruning methods, balanced application of fertilizers, weed management *etc.* are known to reduce disease severity to a considerable extent in mulberry. Planting of mulberry with wider spacing (90 cm × 90 cm) and paired row system (90cm + 150cm) × 60 cm helps to reduce the incidence of foliar diseases such as brown leaf spot, powdery mildew, black rust, fungal leaf blight and bacterial blight to an extent of 25-30% compared to closer spacing (60 cm × 60 cm/60 cm × 30 cm) where an ideal condition is created for multiplication of pathogens due to poor aeration. Similarly, about 21-25% reduction of disease severity was observed in case of middle pruning (40 cm above the ground level) over the basal pruning. Higher disease incidence under ground level pruning might be due to easier contact and entry of pathogens or over wintering stage of pathogen present in soil/debris and entry through cut ends of the plants. Similarly, reduction in incident of above foliar diseases under different types of fertilizer applications like high amount of phosphorus (300: 180:120 kg NPK), application of bacterial biofertilizers and VAM was also observed to reduce the disease severity by 30-35% over the check (recommended dose 300:

120:120 kg NPK). Intercropping of soybean, green gram, forage crops such as ragi and maize between mulberry rows under wider spacing also reduces the incidence of red rust (Sharma *et al.*, 1995; 1996; Prasad *et al.*, 1999; Govindaiah and Sharma, 2001).

Table I. The popular mulberry varieties under cultivation and their reactions to major foliar diseases.

Tableau I. Variétés populaires de mûrier cultivées et leurs réactions aux principales maladies foliaires.

Diseases and reactions						
Sl. No.	Varieties	Leaf spot	Powdery Mildew	Leaf rust	Leaf blight	Bacterial Blight
Maladies et réactions						
No. de série	Variétés	Tache de la feuille	Mildiou poudreux	Rouille de la feuille	Flétrissure de la feuille	Flétrissure bactérienne
1	Mysore Local	S	S	S	S	S
2	Kanva-2	S	MR	S	MR	MR
3	S-13	MR	R	MR	S	R
4	S-14	MR	R	MR	S	R
5	S-30	MR	MR	S	MR	MR
6	S-31	MR	MR	MR	S	MR
7	S-34	S	MR	S	MR	S
8	S-36	R	S	S	MR	MR
9	S-41	MR	MR	MR	MR	S
10	S-54	S	MR	S	MR	MR
11	S-61	MR	MR	MR	MR	S
12	MR-2	R	MR	MR	MR	MR
13	Belidevalaya	R	R	MR	MR	R
14	RFS-135	R	R	MR	MR	MR
15	RFS-175	MR	R	S	S	MR
16	OPH-1	R	MR	S	S	MR
17	MS-2	MR	MR	S	MR	MR
18	Kosen	MR	MR	S	MR	MR
19	Sujanpur	S	S	S	S	S
20	V-1	R	MR	MR	MR	MR

0 Percent Disease Index (PDI) = Immune / *Indice de pourcentage de la maladie (PDI) 0 = Immunisé.*

0 - 5.0 PDI = Resistant.

5.1-20.0 PDI = Mod. Resistant / *Mod. Résistant.*

20.1 - 50. PDI = Susceptible / *Sensible.*

50.1-100 PDI = Highly susceptible / *Très sensible.*

3. Use of phytosanitary measures:

Phytosanitation is the most practical eco-friendly method for plant disease management. The removal of weeds from mulberry gardens plays an important role in disease management as they act as alternative hosts for various pathogens of mulberry. The crop debris is one of the main sources of inoculum in mulberry garden. Crop debris left in the garden often possesses inoculum of the pathogens in the form of spores and mycelia, which remain inactive during unfavourable condition and infect the plant when conditions become favourable. Hence debris should be suitably disposed off either by burning or composting (Sharma, 2004).

SOILBORNE DISEASES OF MULBERRY

The major soilborne diseases, which affect the mulberry crop during cultivation, are discussed below along with their management through eco-friendly approaches.

1. Nursery diseases:

Mulberry is mainly propagated through stem cuttings either by raising the saplings in nursery or by direct plantation of cuttings in the main field. It has been observed that various wounds are inflicted while preparation of the stem cuttings. These wounds form the main portal for entry of many soilborne pathogens causing various diseases like **stem canker** (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) characterized by presence of greenish-black eruptions on cuttings, **cutting rot** [*Fusarium solani* (Mart.)] appears as rotting of whole cuttings, **collar rot** [*Phoma mororum* Sacc. and *P. sorghina* (Sacc.) Boerema *et al.*] manifests as brown to black discolouration of bark near the soil line and **die-back** (*B. theobromae*) characterized by the wilting of saplings. Among them, cutting rot and stem canker affect the sprouting of cuttings while collar rot and die back attack during sapling stage. These diseases cause the mortality of cuttings and saplings to an extent of 40-45% (Gupta and Sarkar, 1999; Sharma *et al.*, 2003).

Management of Disease:

Physical method like deep ploughing and exposing the soil to sunlight after covering with transparent polythene sheets (30 μ m thickness) for about 3 months help in reduction of various soilborne pathogens causing nursery diseases (Sharma and Gupta, 2005). For biological control of nursery diseases, a biofungicide, Nursery-Guard produced by *T. pseudokoningii* Rifai (a product of CSRTI, Mysore) was developed and recommended after mixing with Farm Yard Manure (FYM) at the ratio of 1:60 by storing under the shade for one week to enhance the *T. pseudokoningii* colonies. Afterwards, the mixture is broadcasted in nursery beds @ 2 kg/m² and incorporated in to the soil by light digging and the cuttings should be planted in treated beds, followed by irrigation. The technology increased the sapling survivability up to 30% over the check. Integration of soil application of Nursery-Guard mixture and soaking the stem-cuttings with 0.1% solution of Dithane M-45 for half an hour before plantation further enhances the sapling survivability up to 40% over the check, besides improving the soil and saplings health (Gupta and Sarkar, 1999). The enhancement of sapling survivability up to 40% is due to the synergistic effect of Nursery Guard and Dithane M-45. *T. pseudokoningii* present in Nursery Guard inhibits the growth of pathogens causing nursery diseases by the process of competition (colonization), hyper parasitism and antibiosis (production of hydrolytic enzymes and antifungal compounds). In addition, *T. pseudokoningii* stimulates the growth of saplings, as it is also known to produce the plant growth promoting substances (Tronsmo, 1996; Sharma and Gupta, 2005). On the other hand Dithane M-45 used for cutting dressing kills the pathogens present in cuttings to check the primary contamination (Sharma and Gupta, 2005).

Studies were also conducted to find out the effect of compost prepared by seri residue (silkworm litter + rearing waste) enriched with rock phosphate, useful (phosphate solubilizing bacteria and *Azotobacter*) and antagonistic (*T. harzianum* and *T. pseudokoningii*) microbes on suppression of nursery diseases. The enriched compost after mixing with neem oil cake (2:1) at the rate of 2 kg/m²

enhanced the sprouting and survival of cuttings up to 45% over the check. The package is eco-friendly besides improving the soil health (Sharma *et al.*, 2008).

Under chemical method, stem cuttings need to be soaked in 0.1% Dithane M-45 solution for half an hour before plantation and treated cuttings need to be planted in nursery beds. Further, 25 - 30 days old saplings should be sprayed with 0.2% Bavistin solution. This method reduces the saplings mortality by 15 - 20% (Sharma and Gupta, 2005).

2. Root rot disease:

Root rot is the most dangerous disease due to its epidemic nature and potential to kill the plants completely. The disease is observed in almost all mulberry growing areas. Various types of root rots such as dry root rot [*F. solani* (Mart.) Sacc./*F. oxysporum* Schlecht.], black root rot (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) and charcoal root rot [*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid] have been reported on mulberry (Sharma *et al.*, 2003; Sharma and Gupta, 2005). Further, rapid death of the plants and epidemic nature of the disease was observed due to microbial complexity (involvement of more than one pathogen) and the pathogens were identified as *F. solani* (Fs), *F. oxysporum* (Fo), *B. theobromae* (Bt) and *M. phaseolina* (Mp). The Fs, Fo along with Bt was found to be frequently associated causing the root rot disease in different parts of India like Karnataka and Tamil Nadu while Fs, Fo along with Mp was observed in Andhra Pradesh (Chowdary *et al.*, 2003). The disease was reported throughout the year in all soil types under varied agro-climatic conditions resulting in 30% mortality of plants with leaf yield loss upto 14 % due to drying and death of plants (Sharma *et al.*, 2003).

The disease initially appears in few plants in isolated patches, which act as infective centers for the spread of the disease, leading to the death of established plants within a short period (Philip *et al.*, 1995; 1997; Chowdary *et al.*, 2003; Sharma and Gupta, 2005). Soil temperature ranging from 26 - 35° C, soil moisture below 40% and soil pH of 5 - 10 are favourable for the disease development. Incidence of nematodes enhances the intensity of root rot as nematodes cause wounds on roots while feeding/penetration, which acts as entry points for pathogens causing root rot disease (Sharma *et al.*, 2003; Naik, 2006).

Management of Disease:

Edaphic factors play an important role for outbreak of root rot disease and managing such factors help in reducing the disease occurrence. It was observed that outbreak of disease was more in alkaline and sandy soils (both black and red) with low soil moisture (below 40%) and low nutrient contents (OC, N, P & Zn). The disease can be prevented through soil test based fertilizer application and soil moisture conservation methods (Chowdary, 2006).

For biological control of root rot disease, a talc based biofungicide, Raksha (a product of CSRTI, Mysore) was developed from *T. harzianum* (Th-1), which reduced the disease severity up to 70%. Raksha needs to be applied after mixing with FYM (1:50) at the rate of 500 g/plant in the root zone and continued for one year at an interval of 3 months. *T. harzianum* does not show any residual toxicity on mulberry and silkworms (Philip *et al.*, 1996; Philip *et al.*, 2000). An IDM package was developed by combined application of Dithane M-45 and Raksha mixture. In this method, Ten gram of Dithane M-45/plant (one dose only before plantation of new saplings) is applied to root zone. After 15-20 days, the Raksha mixture at the rate of 500g/plant in the root zone has to be applied and plant the new saplings and the Raksha mixture continued for one year at an interval of 3 months followed by irrigation. The technology controls the disease up to 80% (Sharma *et al.*, 2003). In this case, Dithane M-45 reduces the pathogen load in the soil (Sharma and Gupta, 2005) whereas *T. harzianum* present in Raksha inhibits the growth of pathogens through hyperparasitism/competition/antibiosis. Further, the antagonist produces hydrolytic enzymes/ antifungal compounds (chitinases, trichodermin and glucanase), which inactivates the pathogens by dissolve the cell wall (Tronsmo, 1996).

For better management of root rot disease caused by *F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* and *M. phaseolina*, Raksha was integrated with bioformulation of *P. fluorescens* (Psf-7) along with FYM (1:1:50). The mixture was applied at the rate of 500 g/plant, which reduced the disease severity

up to 85% without any residual toxicity on silkworms (Chowdary *et al.*, 2004). Compost prepared from seri residue enriched with rock phosphate, useful (phosphate solubilizing bacteria, and *Azotobacter*) and antagonistic (*T. harzianum* and *T. pseudokoningii*) microbes after mixing with neem oil cake (2:1) at the rate of 250 g/plant was found effective in controlling the root rot disease caused by *F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* and *M. phaseolina* to an extent of 74.3% and improved the leaf yield up to 37.0% over the check (Sharma *et al.*, 2006).

For effective biomanagement of charcoal root rot, the soil application of *T. harzianum*/ *T. viride* after mixing with neem oil cake and FYM (1:10:40) @ 500g/plant was recommended, which reduced the disease severity up to 86 - 89% and prevented the leaf yield loss to an extent of 52% without any residual toxicity on silkworms (Chowdary, 2006).

Gangwar and Thangavelu (1991) reported that the mulberry varieties viz., S-36 and S-34 showed susceptibility to root rot pathogens compared to K-2 and MR-2. Philip *et al.*, (1995) documented higher susceptibility of root rot caused by *F. solani*/*F. oxysporum* in varieties like S-34 (55.6%) followed by S-13 (53.5%) than Mysore Local variety (19.4%). Twenty genotypes of mulberry were screened against *Macrophomina* root rot under natural conditions and none of the genotype was found to be resistant (Chowdary, 2006).

Philip *et al.* (1995) suggested the chemical method for the control of root rot, which involves the root dipping of saplings in 0.1% Bavistin solution for half an hour and planting in pits dusted with 10 g of Dithane M-45 after removing the soil around the infected plants. If the disease is very severe, affected plants should be uprooted and destroyed. 10 g of Dithane M-45/ pit needs to be applied in the diseased patches and saplings treated with Bavistin should be planted. The application should be continued for one year at an interval of 3 months. By adoption of this method, the disease control of 65-70% can be achieved.

3. Root knot disease:

Root knot disease caused by the nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood is also a serious disease of mulberry and prevalent in almost all the sericultural areas. Though all the six major species of *Meloidogyne* viz., *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. arenariformis* and *M. mali* have been reported to cause root knot disease in mulberry, survey revealed that *M. incognita* is more prevalent in sandy soils under irrigated farming (Narayanan *et al.*, 1966; Todia, 1984; Govindaiah *et al.*, 1994; Philip *et al.*, 1997; Minamizawa, 1997; Sharma and Sarkar, 1998; Ertian, 2003). The disease manifests in the form of galls/knots on the roots resulting in stunted growth and loss of vigour of the plant (Narayanan *et al.*, 1966). The disease causes reduction in leaf yield to an extent of 12%, in addition to affecting the quality especially leaf protein (Paul *et al.*, 1995; Sharma, 1999). Soil temperature from 15-35° C (optimum being 20-30° C), more than 60% soil moisture and soil pH of 4-8 are favourable for the development of nematode (Sharma and Gupta, 2005).

Management of Disease:

In physical method, the nematode population in the infected gardens can be reduced by deep digging/ploughing to a depth of 30-40 cm during summer. The higher temperature and lower humidity developed by this practice helps to kill the nematode eggs and larvae present in the soil, as they are sensitive to heat (Minamizawa, 1997; Sharma, 1999). Further, hot water treatment of infected mulberry saplings can be followed for elimination of nematode population by dipping the root system in hot water (48° - 50° C for 20 minutes) and transplanting to the main field (Sharma and Govindaiah, 1996; Ertian, 2003). Soil application of neem oil cake (obtained from seeds of *Azadirachta* spp. after oil extraction) at the rate of 2 MT/ha/year (in four equal split doses) around the basin of the plants during intercultural operations/fertilizers application reduces root galls and egg masses of nematode to an extent of 65 - 70% (Govindaiah *et al.*, 1997; Sharma, 1999).

Soil drenching of *Acacia auriculiformis* extract (2 g/ liter) @ 20 ml/plant significantly reduced the nematode infestation (galls/plant) up to 70-75 % over the check under field conditions. The extract

was obtained by dissolving the powdered funicles of *Acacia* in 90 % ethanol and air dried with anhydrous calcium chloride. Later, residue was dissolved in water and applied to plots (Datta *et al.*, 1997). Mulching of green leaves of neem (*Azadirachta indica*) and pongamia (*Pongamia glabra*) @ 1 tonne/ha/crop in soil has significantly reduced the incidence of root knot disease to an extent of 65-70 % and prevented the leaf yield loss by 20-25 % over the check (Govindaiah *et al.*, 1997). Use of amaranth plants (*Amaranthus viridis* L.) as trap crop for management of *M. incognita* in mulberry has been reported. Intercropping of amaranth between two rows of mulberry in naturally infested field with nematode reduced the disease severity (galls/plant) to an extent of 75-80%. It was also observed that amaranth is more susceptible to nematodes than mulberry thereby nematodes preferred to feed the roots of amaranth than mulberry (Datta and Datta, 2007).

An eco-friendly IDM strategy has been developed involving application of talc based Bionema produced by *V. chlamydosporium* (a product of CSRTI, Mysore) along with neem oil cake for effective management of root knot disease. Bionema is recommended after mixing with neem oil cake and FYM (1:24:200) @ 200g/plant around the roots (3 times/year at 4 months interval) during cultural operations/ fertilizer application followed by irrigation. The technology reduces the disease severity by 85 - 90% and preventing leaf yield loss by 23% (Sharma, 1999). The maximum reduction in disease severity was due to the complementary effect of Bionema and neem oil cake. *V. chlamydosporium* present in Bionema parasitises the eggs of *M. incognita* and stops the hatching (Davies *et al.*, 1991; De Leij and Kerry, 1991) whereas the compounds present in the neem oil cake (nimbodin, thionemone and phenolics) kill the nematode larvae present in the soil (Alam, 1993; Sharma and Gupta, 2005). As there is no residual toxicity on silkworm the method can be applied at any time of crop period (Sharma *et al.*, 2004). Further, a package for better management of disease was developed by planting of mulberry varieties like S-13/S-34 along with soil application of Bionema + neem oil cake in disease prone areas, which reduced the severity of nematode up to 85-93% (Sharma *et al.*, 2001a).

The technology, Bionema (B) + neem oil cake (NOC) [BNOC] was found compatible with bacterial biofertilizer, VAM and Vermicompost and can be integrated. Results revealed that combined application of BNOC with VAM reduced the disease severity to an extent of 94.3% (against 86.0% in BNOC) with prevention of leaf yield loss up to 29.2% without any residual toxicity on silkworms (Sharma *et al.*, 2005a).

Application of compost prepared from seri residue enriched with rock phosphate, useful (phosphate solubilizing bacteria, and *Azotobacter*) and antagonistic (*T. harzianum* and *T. pseudokoningii*) microbes after mixing with neem oil cake (2:1) @ 250 g/plant was found to reduce the severity of disease to an extent of 80.7% besides preventing the leaf yield loss up to 28.5% over the check (Sharma *et al.*, 2006).

About 250 mulberry genotypes were screened for identifying the source of resistance/susceptibility against root knot disease. Results revealed that none of them were found resistant to the disease. However, varieties like S-13, S-30, S-1096, RFS-135 and Assambola are found to be moderately resistant to the disease and were recommended for use in breeding programmes to evolve nematode resistant varieties (Govindaiah *et al.*, 1996; Sharma *et al.*, 2001a). Further, Mohana (2003) has screened 7 varieties of mulberry against *M. incognita*, among which 3 varieties viz., RFS-135, MR- 2 and Palladam local were found resistant while K-2, V-1, DD and S-54 were found susceptible to root knot disease.

Soil application of nematicides like Furadan 3G (Carbofuran) at the rate of 40 kg/ha/year or Rugby 10G (Sebufos) at the rate of 30 kg/ha/year in four equal split doses at an intervals of 3 months can effectively reduce 70 - 75% root galls and egg masses of the nematode resulting in 12 - 16% improvement in leaf yield. After 40 - 45 days of nematicide application, the leaves can be used for silkworm rearing (Govindaiah *et al.*, 1993; 1997).

4. Root disease complex:

Root disease complex has become a major production constraint in mulberry cultivation in the recent years. It is caused by the association of root knot nematode (*M. incognita*) with root rot

pathogens viz., *B. theobromae* and *F. solani* under irrigated farming. Higher intensity of root disease complex was observed in the root system having more than 100 nematode galls/plant coupled with infection of *B. theobromae* and *F. solani* in sandy soils. Disease complex is characterized by stunted plant growth, yellowing and wilting/withering of leaves. The root system showed formation of galls (by nematode) with decaying/rotting of roots by fungal attack. Under severe infestation, the entire root system gets decayed and the plants die in patches in the garden (Naik *et al.*, 2004a; Naik, 2006).

Management of Disease:

For effective management of the root disease complex, an integrated method involving bio-consortium was recommended. Bio-consortium was developed using native bioagents (*T. harzianum* and *T. viride*) isolated from mulberry rhizosphere and should be applied after mixing with niger (*Guizotia abyssinica* L.) oil cake and FYM (1:10:50) at the rate of 200 g/plant near root zone after removing the soil to a depth of 15 cm during cultural operation followed by irrigation when the symptoms like wilting/withering of leaves appear on the plants. The application should be repeated 3 times in a year. The technology reduces the disease severity to an extent of 75-80 % and prevented the leaf yield loss up to 35-40 % (Naik, 2006).

Sixteen popular mulberry varieties were evaluated for their reaction against root disease complex and none of the varieties were found to be resistant. However, variety S-13 was moderately resistant and varieties like Local, K-2, S-34, S-36 and S-54 were susceptible while MR-2, S-1, S-1635, V-1, AR-10, AR-12, G-2, G-4, RC-1 and RC-2 were found highly susceptible against root disease complex. Hence, the disease management in early stages is important for sustainable leaf production (Naik, 2006).

Chetak – a herbal formulation for the control of major foliar and soilborne diseases of mulberry:

In mulberry, the foliar and soilborne diseases presently are being controlled using the chemical fungicides and bioformulations either individually or in combination. This individual/ combined application of various pesticides/bioagents specific to each disease (foliar and root) was posing difficulty in technology adoption by the sericulturists. To overcome the above problems, a new product viz., Chetak (CSR&TI, Mysore, India) using botanicals (65%) and sub lethal doses of chemicals (35%) was developed. Chetak is eco-friendly and can be used for the control of all major foliar & soilborne diseases. For the control of foliar diseases spraying of 0.5 % solution of Chetak on leaves is recommended while for the control of root diseases, it was recommended after mixing with lime and bleaching powder (1:1:0.5) at the rate of 50 g/pit at a depth of 15 cm followed by irrigation. The effectiveness of Chetak was tested at 195 farmers' gardens in southern states of India and found effective in reducing the severity of different foliar diseases like leaf spot, powdery mildew, leaf rust & leaf blights to an extent of 62 - 82 % and root diseases [nursery diseases, root knot, root rot & root disease complex] up to 85-90%. The leaves can be fed to the silkworm after 5 days of spraying/application (Sharma *et al.*, 2008a).

CONCLUSION

Mulberry cultivation is a vital activity in silkworm rearing as success of silkworm crop depends on the quality and quantity of mulberry leaves harvested per unit area. Like any agricultural and horticultural crop, various diseases caused by fungi, bacteria and nematodes affect mulberry. For achieving the desired level of control measures, knowledge on accurate diagnosis of the disease is required to save the plant by adopting suitable control measures. The most common and effective method for the control of mulberry diseases is the use of chemical pesticides. Though non-chemical methods for the control of plant diseases are regarded as safe alternatives to chemical pesticides, individual approach is mostly effective in the laboratory/ green house conditions and less successful in the field especially when the intensity of disease is very high at the field. Thus, emphasis must be

given to develop an eco-friendly integrated disease management strategy against major foliar and soilborne diseases in mulberry by combining systems like forewarning model (predicted formulae), botanicals, biocontrol agents and effective cultural practices. Though recently Chetak a herbal product is developed for the control of all major foliar and soilborne diseases in southern states of India, the search for new biocontrol agents/ botanicals against mulberry pathogens requires to be intensified in various other mulberry growing areas. The commercially available bioformulations used in other agricultural crops and sub lethal dose of chemicals (less than 50% of recommended dose) may also be tried as a component in integrated disease management of mulberry.

REFERENCES

- ALAM M.M. (1993) Bioactivity against phytonematodes. In: *Neem Research and Development*. RANDHAWA, N. S. & PARMAR, B. S. (Eds.), Society of Pesticide Science, India, pp. 123-143.
- BAQUAL M.F., SHARMA D.D., GUPTA V.P. & CHANDRASHEKAR D.S. (2000) Efficacy of Biocontrol agents and plant products against *Pseudomonas syringae* pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. *Sericologia*, 40, 479-485.
- BHATTACHARJEE S.S., CHAKRABORTY N., KUMAR, C.A. & SAHAKUNDU A.K. (1994) Control of the white powdery mildew, *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. with the ladybird beetle, *Illeis indica* Timb. (Coccinellidae : Coleoptera). *Sericologia*, 34, 485-491.
- BISWAS S., DAS N.K., QADRI S.M.H. & SARATCHANDRA B. (1995) Evaluating different plant extracts against three major diseases of mulberry. *Indian Phytopathol.*, 48, 342-346.
- CHOWDARY N.B., GOVINDAIAH & SHARMA D.D. (2003) Microbial Complexity of mulberry (*Morus* spp.) root rot disease in South India. In: *Plant pathogens diversity in relation to plant health*. MANOHARACHARY C. (Ed.), Osmania University, Hyderabad, India, pp. 112.
- CHOWDARY N.B., SHARMA D.D., SARASWATHY P. & REDDY M.P. (2004) Effectiveness of *Pseudomonas fluorescens* for the control of root rot disease in mulberry. In: *Annual Report* (2003-04), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, pp.37-38.
- CHOWDARY N. B. (2006) Studies on root rot disease of mulberry (*Morus* spp.) and its management with special reference to the antagonistic microbes. Ph. D. Thesis, University of Mysore, Mysore, India.
- DATTA S. C., SINHABABU S. P. & SUKUL N. C. (1997) Improved growth of silkworms from effective treatment of mulberry diseases by *Acacia auriculiformis* extract. *Sericologia*, 37, 105-108.
- DATTA S.C. & DATTA R. (2007) Intercropping amaranth with mulberry for managing root knot nematodes and improving sericulture. *Sericologia*, 47, 297-302.
- DAVIES K.G., DE LEIJ F.A.A.M. & KERRY B.R. (1991) Microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes in tropical agriculture. *Tropical Pest Management*, 37, 303-320.
- DE LEIJ F.A.A.M. & KERRY B.R. (1991) The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as a potential biological control agent against *Meloidogyne arenaria*. *Revue de Nematologie*, 14, 157-164.
- ERTIAN H. (2003) Protection of Mulberry Plants (Translate from Chinese). Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, India, pp. 2-50.
- FUKUDA T., SUDA M., MATSUDA M., MAYASHI T., KOUROSO T., HORIUSHI Y. & FLORRIN M. (1959) Formation of the silk protein during the growth of the silkworm. *Biochem.* 12, 90-112.
- GANGWAR S.K. & THANGAVELU K. (1991) Occurrence of mulberry diseases in Tamil Nadu. *Indian Phytopathol.*, 44, 545-549.
- GANGAWAR S.K. & THANGAVELU K. (1995) Varietal and seasonal incidence of bacterial leaf blight disease of mulberry caused by *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens. *Indian J. Seric.* 34, 110-113.

- GANGWAR S.K., QADRI S.M.H., MAJI M.D., PRATHEESH KUMAR P.M. & SARATCHANDRA B. (2000) Evaluation of fresh plant extracts for the control of mulberry powdery mildew. *Indian J. Seric.*, 39, 76-78.
- GOVINDAIAH, DANDIN S.B., SHARMA D.D. & DATTA R.K. (1993) Efficacy of different doses of Carbofuran on *Meloidogyne incognita* infesting mulberry. *Indian J. Seric.* 32, 99-101.
- GOVINDAIAH, GUNASEKHAR V., GOWDA P. & THIAGARAJAN V. (1994) Field evaluation of fungicides against *Phyllactinia corylea* causing powdery mildew in mulberry (*Morus alba* L.). *Indian J. Seric.*, 33, 160-162.
- GOVINDAIAH, SHARMA D. D., GUNASEKHAR V. & DATTA R. K. (1996) Screening of mulberry genotypes against root knot nematode disease (*Meloidogyne incognita*). *Indian J. Nematol.*, 26, 108-111.
- GOVINDAIAH, SHARMA D.D., HEMANTHARAJ M.T. & BAJPAI A.K (1997) Nematicidal efficacy of organic manures, intercrops, mulches and nematicide against root knot nematode in mulberry. *Indian J. Nematol.* 27, 28-35.
- GOVINDAIAH & SHARMA D. D. (2001) Importance of cultural practices in management of mulberry diseases. *Indian Silk*, 40 (4), 5-6.
- GUNASEKHAR V., GOVINDAIAH & HIMANTHARAJ M. T. (1995) Efficacy of fungicides in controlling mulberry leaf rust caused by *Cerotelium fici*. *Indian J. Seric.*, 34, 60-62.
- GUPTA V.P. & SARKAR A. (1999) Management of diseases in mulberry nurseries for better sapling survivability and growth. *Indian Farming*. 49 (5), 15-16.
- GUPTA V.P. & SHARMA D.D. (2004) Induction of systemic resistance in mulberry against leaf spot and leaf rust diseases by utilization of plant growth-promoting rhizobacteria. In: *Annual Report* (2003-04), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, 40, 34-35.
- KUMAR U.N.N., SHARMA D.D. & SHREE M.P. (1993) Effect of feeding fungi infected mulberry leaves on the commercial characters of silkworm (*Bombyx mori* L.). *Indian J. Seric.*, 32, 107-109
- KUMAR V. & CHOWDARY N. B. (2001) *Illeis indica* – A potential biocontrol agent to check the menace of powdery mildew on mulberry. *Indian Farming*, 51(4), 32-34.
- MACHII H. & KATAGIRI K. (1991) Varietal difference in nutritive values of mulberry leaves for rearing for silkworms. *JARQ*, 25, 202-208.
- MAJI M. D., QADRI S.M.H. & PAL S.C. (2000) Control of leaf spot of mulberry caused by *Xanthomonas campestris* P.v. *mori*. *Indian J. Seric.*, 39, 49-51.
- MINAMIZAWA K. (1997) *Moriculture- Science of Mulberry cultivation* (Translated from Japanese). Oxford and IBH Publishing co. Pvt. Ltd., New Delhi, India, pp.139-164.
- MOHANA V. (2003) Biomangement of root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949 in mulberry (*Morus alba* L.), M. Sc., Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, Tamil Nadu, India.
- NAIK V.N., MALA V.R & GUPTA V.P. (2004) Epidemiology and disease development in promising mulberry genotypes for the effective management of leaf spot and leaf rust diseases. In: *Annual Report* (2003-04), Central sericultural research and training Institute, Mysore, India, 40, 39-40.
- NAIK V. N., SHARMA D. D., GOVINDAIAH & CHOWDARY N. B. (2004a) Occurrence of root knot disease complex in mulberry due to nematode and fungal association. In: *Progress of Research on Disease and Pest Management in Sericulture*. GOVINDAN R., NAIKA R. & SANNAPPA B. (Eds.), Seri Scientific Publishers, Bangalore, India, pp. 29-35.
- NAIK V. N. (2006) Interaction of *Meloidogyne incognita* with soilborne fungal pathogens and their management in mulberry. Ph. D. thesis, University of Mysore, Mysore, India.
- NAIK V. N., SHARMA D. D., MALA V. N. & CHOWDARY N. B. (2008) Prediction of leaf spot disease in mulberry. *Indian Silk*, 47(5), 7.
- NAIK V. N., SHARMA D. D., MALA V. R., REKHA M., GOVINDAIAH & GUPTA V. P. (2008a) Prediction of leaf rust disease in mulberry for timely management. *Sericologia*, 48(2), 195-202.
- NARAYANAN E. S., KASHIVISWANATHAN, K. & IYENGER, M. N. S. (1966) A note on the occurrence of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) in local mulberry. *Indian J. Seric.* 5, 33-34.

- PAUL A., SINHABABU S. P. & SUKUL N. C. (1995) Effect of nematode infected mulberry plants on the growth and silk production of *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 34, 18-21.
- PHILIP T., BAJPAI A. K. & GOVINDAIAH (1994) Disease resistance breeding in mulberry. Int. J. trop. Plant Dis., 13, 183-192.
- PHILIP T., LATHA J., GOVINDAIAH, MALLIKARJUNA B., MONDAL K.C. & BAJPAI A.K. (1995) Some observations on the incidence, associated microflora and control of root rot disease of mulberry in South India. Indian J. Seric., 34, 137-139.
- PHILIP T., SHARMA D. D. & GOVINDAIAH (1996) Biological control of mulberry root-rot disease. Indian Silk, 34 (12), 6-8.
- PHILIP T., GOVINDAIAH, BAJPAI A. K., NAGABHUSHAN G. & NAIDU N. R. (1997) A preliminary survey on mulberry diseases in South India. Indian J. Seric., 36, 128-132.
- PHILIP T., SHARMA D.D. & GOVINDAIAH (2000) Development of talc based biofungicide using *Trichoderma harzianum* and its effect on mulberry root rot disease. Sericologia, 40, 637-642.
- PRASAD K.V., DAYAKAR YADAV B.R. & SULLIA S.B. (1993) Taxonomic status of rust on mulberry in India. Curr. Sci., 65, 424-426.
- PRASAD K. V., DAYAKAR YADAV B. R. & SULLIA S. B. (1999) Screening of mulberry varieties for resistance to leaf rust caused by *Peridiospora mori*. Sericologia, 39, 77-90.
- PRATHEESH KUMAR P.M., MAJI M.D., GANGWAR S.K., DAS N.K. & SARATCHANDRA B. (2000) Development of leaf rust (*Peridiospora mori*) and dispersal of urediospores in mulberry (*Morus* spp.). International J. Pest Management, 46, 195-200.
- QADRI S.M.H., PRATHEESH KUMAR P.M., GANGWAR S.K., ELANGO VAN C., MAJI M.D. & SARATCHANDRA B. (1998) Crop loss assessment due to powdery mildew in mulberry. Bull. Seric., 9, 31-35.
- RAJU H.V. (1998) Investigations on fungal leaf blight diseases of mulberry (*Morus alba* L.). Ph.D. Thesis, University of Mysore, Mysore, India.
- RAO S.S. & SULLIA S.B. (1981) A hyperparasite of *Phyllactinia corylea*, the powdery mildew of mulberry. Curr. Sci., 50, 769.
- REDDY D.N.R., KOTIKAL Y.K., & RAYUDU B.V.S. (1989) Development of *Illeis cincta* on mulberry powdery mildew *Phyllactinia corylea* infesting *Morus alba*. Science & Culture, 55, 111-112.
- SARVAMANGALA H.S., GOVINDAIAH & DATTA R.K. (1993) Evaluation of plant extracts for the control of fungal diseases of mulberry. Indian Phytopathol. 46, 398-401.
- SHARMA D.D., GOVINDAIAH, KATIYAR R.S., DAS P.K., JANARDHAN L., BAJPAI A. K. & CHOUDHURY P.C. (1995) Effect of VA-mycorrhizal fungi on the incidence of major mulberry diseases. Indian J. Seric., 34, 34-37.
- SHARMA D.D. & GOVINDAIAH (1996) Theriotherapy for eradication of *Meloidogyne incognita* infecting mulberry (*Morus alba* L.). Indian J. Seric. 35, 142-143.
- SHARMA D.D., GOVINDAIAH, GHOSH A., PHILIP T., AMBIKA P.K. & CHOUDHARY P. C. (1996) Effect of seasons, spacings, host genotypes and fertilizers doses on the incidence of major foliar diseases of mulberry. Indian J. Seric., 35, 57-61.
- SHARMA D.D. & SARKAR A. (1998) Incidence and intensity of species/races of root knot nematode associated with mulberry under different farming systems and soil types in Mysore region, Karnataka State, India, Indian J. Seric., 37, 137-141.
- SHARMA D.D. (1999) Root Knot disease of mulberry and its management. Indian Farming, 49 (5), 20-24.
- SHARMA D.D. & GUPTA V.P. (2000) Evolution of antagonistic microbes and development of biocontrol method for leaf spot and leaf rust diseases of mulberry. In: *Annual Report* (1999-2000), Central sericultural research and training Institute, Mysore, India, 36, 57-61.
- SHARMA D.D., BAQUAL M.F., GUPTA V.P. & CHANDRASHEKHAR D.S. (2000) A survey on the occurrence of bacterial blight disease complex in mulberry. Indian J. Seric., 39, 113-116.
- SHARMA D.D., BAQUAL M.F., GUPTA V.P. & CHANDRASHEKHAR D.S. (2001) Efficacy of plant extracts against *Pseudomonas syringae* pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. Indian J. Seric., 40, 109-111.

- SHARMA D.D., CHANDRASHEKAR D.S., GUNASHEKAR V., REKHA M. & SARKAR A. (2001 a) Comparative efficacy of different control measures against root knot nematode disease of mulberry. *Indian J. Seric.*, 40, 151-157.
- SHARMA D.D., NAIK V.N., CHOWDARY N.B. & MALA V.R. (2003) Soilborne diseases of mulberry and their management – A review. *Int. J. Indust. Entomol.*, 7, 93-106.
- SHARMA D.D. (2004) Foliar diseases of mulberry and their management. In: *Advances in disease and pest management in sericulture*. GOVINDAN R., NAIKA R. & SANNAPPA B. (Eds.), Seri scientific Publishers, Bangalore, India, pp.1-21.
- SHARMA D.D., CHOWDARY N.B., NAIK V.N. & PALLAVI S.N. (2004) Residual effect of *Verticillium chlamydosporium* based bionematicide on silkworm. IN: *Progress of Research on Disease and Pest Management in Sericulture*. GOVINDAN R., NAIKA R. & SANNAPPA B. (eds.). Seri Scientific Publishers, Bangalore. India, pp. 39-43.
- SHARMA D.D. (2005) Application of fungicides and nematicides in relation to mulberry diseases. In: *A text Book on Mulberry Crop Protection*. GOVINDAIAH, GUPTA V. P., SHARMA, D.D., RAJADURAI S. & NAIK V.N. (Eds.), Central Silk Board (Ministry of Textiles-Government of India) Madivala, Bangalore, India, pp. 247-276.
- SHARMA D.D. & GUPTA V. P. (2005) Soilborne diseases of mulberry and their management. In: *A text Book on Mulberry Crop Protection*. GOVINDAIAH, GUPTA V.P., SHARMA D.D., RAJADURAI S. & NAIK V.N. (Eds.), Central Silk Board (Ministry of Textiles-Government of India) Madivala, Bangalore, India, pp. 195-228.
- SHARMA D.D., CHOWDARY N. B., NAIK V.N., MALA V.R. & DANDIN S.B. (2005) Blight diseases of mulberry (*Morus* spp.) – A review. *Sericologia*, 45, 231-245.
- SHARMA D.D., MALA V.R. & CHOWDARY N.B. (2005a). Integrated management of root knot disease in mulberry. In: *Proceeding of 20th Congress of the International Sericultural Commission* – Volume- I; Section – 1: Mulberry and Section –2: *Bombyx mori*. Central Silk Board, BTM Layout, Madivala, Bangalore, India and International Sericultural Commission, Lyon, France, pp. 82-86.
- SHARMA D.D., MALA V.R. NAIK V.N., CHOWDARY N.B. & DAS P.K. (2006) Impact of microbially enriched compost on suppression of soil borne diseases of mulberry. In: *Annual Report* (2006-07), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, 43, 35-38.
- SHARMA D.D., MALA V.R., DAS P.K. & DANDIN S.B. (2008) Effect of composts enriched with useful/antagonistic microbes on suppression of nursery diseases in mulberry. *Sericologia*, 48,101-108.
- SHARMA D.D., NAIK V.N., MALA V.R. & CHOWDARY N.B. (2008a) Field testing of Chetak – a herbal formulation for the control of major foliar and root diseases of mulberry. In: *Annual Report* (2007-08), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, 44, 38-39.
- SHREE M. P. & NATARAJA, S. (1993) Post infectional biochemical and physiological changes in mulberry. *Curr. Sci.*, 65, 337-341.
- SRIKANTASWAMY K., GUPTA V. P., GUNASEKHAR V. & RENUKESWARAPPA J. P. (1998). Evaluation of fungicidal control of leaf spot and powdery mildew diseases of mulberry at farmer's fields. *Indian J. Seric.*, 37(2), 159-161.
- SUNDARESWARAN P., GOVINDAIAH, SRINIVASAN E. B. & JOLLY M.S. (1988) Effect of leaf rust disease on the nutritive composition of mulberry (*Morus alba* L.). *Indian J. Seric.* 27, 159-160.
- TAKAMATSU S., ISHIZAKI H. & KUNOH H. (1982) Scanning electron microscopy on perithecia of powdery mildew fungi. III. Perithecial development in mulberry powdery mildew, *Phyllactinia moricola*. *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 23, 279-286.
- TEOTIA R.S. & SEN S.K. (1994) Mulberry diseases in India and their control – a preview. *Sericologia*, 34, 1-19.
- TEOTIA R.S., KUMAR A. & MANDAL S.K. (1992) Biological control of powdery mildew. *Indian Silk*, 31 (1), 26.
- TEOTIA R. S., MANDAL S. K. & SEN S.K. (1994) Studies on the fungicidal control of leaf rust disease (*Aecidium mori* Barclay) of mulberry. *Sericologia*, 34, 555-557.

- TRONSMO A. (1996) *Trichoderma harzianum* in biological control of fungal diseases; In: Principles and practice of managing soilborne plant pathogens. Robert H. (Ed), APS Press, The American Phytopathological Society. St. Paul, Mimesota, pp. 213-235.
- TODIA Y. (1984) Nematode species from mulberry fields and their geographical distribution in Japan. *Jap. J. Nematol.* 14, 20-27.
- VIDYASAGAR G. M. & RAJASAB A. H. (2001) Effect of neem (*Azadirachta indica*), parthenium (*Parthenium hysterophorus*) and Garlic (*Allium sativum*) extracts on the incidence of powdery mildew of mulberry caused by *Phyllactinia corylea*. *Indian J. Seric.*, 40(1), 81-85.

REVUE SUR LA LUTTE CONTRE LES MALADIES DU MURIER PAR DES APPROCHES ECOLOGIQUES

D. D. SHARMA, V. NISHITHA NAIK, N. B. CHOWDARY, MALA V. RAJAN & C. K. KAMBLE

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

*Le mûrier (**Morus spp.**), plante hôte du ver à soie (**Bombyx mori L.**) est atteint par de nombreuses maladies foliaires et véhiculées par le sol, provoquées par différents types de pathogènes comme les champignons, les bactéries et les nématodes, qui diminuent le rendement foliaire jusqu'à 20 %, tout en détériorant la qualité de la feuille. Plusieurs méthodes culturales, chimiques et non chimiques (biologiques et intégrées) ont été mises au point pour lutter contre ces maladies. Comme les vers à soie sont très sensibles aux produits chimiques, leur application nécessite une période de sécurité avant d'utiliser la feuille. Par ailleurs, les produits chimiques entraînent une pollution environnementale, la contamination des ressources naturelles en eau, nuisent à la microflore bénéfique du sol et renforcent aussi la résistance aux pathogènes. Il est donc nécessaire de passer à des méthodes écologiques pour lutter contre les maladies du mûrier et un travail de recherche important a été entrepris sur ces aspects. Nous avons donc essayé de passer en revue les informations disponibles sur la lutte écologique contre les maladies pour une production de feuilles de qualité chez le mûrier.*

INTRODUCTION

Pour la culture du mûrier [la plante hôte du ver à soie (*Bombyx mori L.*)], les maladies sont les principales contraintes dès l'établissement initial (plantation en pépinière), car elles entraînent des pertes sévères pour les cultivateurs de mûrier. La culture est sensible à de nombreuses maladies transportées par l'air ou le sol, provoquées par des champignons, des bactéries et des nématodes. Les principales maladies transportées par l'air (foliaires) sont la tache de la feuille, le mildiou poudreux, la rouille de la feuille, la flétrissure fongique de la feuille et la flétrissure bactérienne de la feuille. Parmi les maladies véhiculées par le sol (racine), le chancre de la tige, la pourriture des boutures, la pourriture du collet et le dépérissement affectent l'établissement initial de la plantation du mûrier dans la pépinière, tandis que le nématode de la racine, la pourriture de la racine et l'ensemble de la maladie de la racine (association du nématode et des pathogènes de la pourriture de la racine) affectent la plantation établie (Teotia et Sen, 1994 ; Sharma et coll., 2003 ; Sharma, 2004). Ces maladies diminuent d'environ 20 % la production foliaire, tout en altérant la valeur nutritionnelle de la feuille, surtout les protéines, qui sont essentielles aux vers à soie pour filer des cocons et une soie de qualité (Fukuda et coll., 1959 ; Sundareswaran et coll., 1988 ; Machii et Katagiri, 1991 ; Shree et Nataraja, 1993 ; Raju, 1998 ; Sharma et coll., 2003 ; Sharma, 2004 ; Sharma et Gupta, 2005). L'alimentation des vers à soie avec des feuilles malades a une incidence sur la croissance, le développement, le rendement en cocons et la qualité de la soie (Kumar et coll., 1993 ; Qadri et coll., 1998 ; Raju, 1998).

Plusieurs méthodes culturales, chimiques et non-chimiques (biologiques et intégrées) ont été mises au point pour lutter contre les maladies du mûrier (Sharma et coll., 2003 ; Sharma, 2004 ; Sharma et Gupta, 2005). Même aujourd'hui, les produits chimiques sont couramment utilisés pour lutter contre les maladies du mûrier, y compris les nématodes. Bien que plusieurs produits chimiques aient été recommandés pour lutter contre les maladies du mûrier (Sharma et coll., 2003 ; Sharma, 2004 ; Sharma, 2004 ; Sharma et Gupta, 2005), les fermiers hésitent à les utiliser pour la protection

des cultures, en raison de leur toxicité résiduelle pour le ver à soie (Philip et coll., 1997). De plus, l'utilisation de produits chimiques entraîne une pollution environnementale y compris la contamination des ressources naturelles en eau, ce qui affecte la santé du sol et l'écosystème. Par ailleurs, l'application répétée de produits chimiques augmente aussi la résistance des pathogènes, tout en affectant les microbes bénéfiques dans le sol (Davies et coll., 1991 ; Paul et coll., 1995 ; Sharma, 2005). Pour ces raisons, des méthodes écologiques sont nécessaires pour lutter contre les maladies du mûrier et beaucoup de recherches ont été entreprises sur ces aspects. Cette revue présente les recherches entreprises jusqu'à présent sur la lutte écologique contre les maladies du mûrier pour obtenir une production de feuille de qualité.

MALADIES FOLIAIRES DU MURIER

On utilise les feuilles de mûrier pour nourrir les vers à soie et l'utilisation des produits chimiques pour lutter contre les maladies pourrait ne pas être praticable en raison de leur toxicité possible et des méthodes de lutte non chimiques contre les maladies du mûrier sont donc nécessaires. Nous présentons ci-dessous les principales maladies foliaires et comment lutter contre elles grâce à des méthodes écologiques.

1. Tache de la feuille :

On a signalé que plus de 25 pathogènes provoquent la maladie de la tache de la feuille chez le mûrier. Parmi elles, la tache marron de la feuille provoquée par *Cercospora moricola* Cooke est la plus dévastatrice et est très courante pendant les saisons des pluies et après les pluies (juillet-décembre), elle diminue le rendement foliaire d'environ 10 à 12 %. La température de 24 - 26° C et 70 à 80 % d'humidité relative sont les plus propices au développement de la maladie. La maladie commence à progresser 35 à 40 jours après la taille / la cueillette des feuilles et devient sévère au bout du 70^{ème} jour après la taille (Sharma, 2004). La maladie apparaît comme des taches marron irrégulières entourées par des halos jaunâtres chlorotiques sur les deux surfaces de la feuille. Plus tard, les taches grandissent et fusionnent, ce qui entraîne la formation de trous. La maladie se propage principalement avec les gouttes de pluie (éclaboussement par la pluie) par les conidies (Teotia et Sen, 1994).

Lutte contre la maladie :

On peut prévoir lorsque la maladie va survenir d'après les modèles mathématiques disponibles de sorte que l'on peut adopter des mesures opportunes de prévention de la maladie. Chez le mûrier, on a étudié la relation entre l'âge de la culture et les paramètres météorologiques et la sévérité de la tache marron de la feuille. On a observé que le nombre de jours après la taille et la température maximum sont positivement corrélés et contribuent de manière significative au développement de la maladie. En utilisant l'analyse de régression dégressive, on en a déduit une équation à double variable pour la prédiction de la maladie de la tache marron de la feuille (Naik et coll., 2004 ; 2008).

Prévision de la sévérité de la maladie de la tache marron de la feuille (%) =

$$7,09 + 0,59 ** (\text{DAP}) - 1,07 * (\text{Temp. Max.}) \text{ avec les valeurs } R^2 \text{ de } 0,86$$

où, DAP : Jours Après la Taille (fourchette favorable : 35 – 70 jours) ; Temp. Max. : Température maximum (fourchette favorable : 22 -30° C)

Par ailleurs, on a suggéré que pendant les saisons des pluies et de l'hiver, il faut commencer les mesures préventives basées sur les besoins pour la tache marron de la feuille avant le 45^{ème} Jour Après la Taille (Naik et coll., 2004).

Dans les conditions de terrain, les extraits de feuille d'*Eucalyptus* spp. et de *Calotropis gigantea* diminuent l'incidence de la tache marron de la feuille, qui est de 56 à 63 % (Sarvamangala et coll., 1993). Douze microbes du phylloplane isolés sur des feuilles de mûrier saines contre la tache marron de la feuille et deux agents biologiques, c'est-à-dire *T. harzianum* (Th-1) et *T. pseudokoningii* (Tp) ont été sélectionnés pour une évaluation sur le terrain. Les résultats révèlent que la vaporisation combinée de Th-1 et de Tp sur les feuilles diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 50 % par rapport au témoin sur le terrain (Sharma et Gupta, 2000). On a évalué plusieurs rhizobactéries promouvant la croissance de la plante pour induire une résistance systémique chez le mûrier contre la tache marron de la feuille. Parmi elles, l'application combinée dans le sol d'*Azotobacter chroococcum* (Azc-3) et de *Pseudomonas fluorescens* (Psf-4) s'avère être efficace pour induire la résistance systémique et diminuer la sévérité de la maladie jusqu'à 90 % sur le terrain et empêcher une perte de rendement foliaire de 15 % par rapport au témoin (Gupta et Sharma, 2004).

En ce qui concerne les mesures chimiques, on a recommandé la vaporisation de solution de Bavistine à 0,2 % (Carbendazim 50 % WP), qui diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 70 % et on peut alimenter le ver à soie avec les feuilles traitées sans risques, 2 à 3 jours après la vaporisation (Srikantaswamy et coll., 1998 ; Sharma, 2004).

2. Mildiou poudreux :

La maladie est provoquée par un champignon *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. connu aussi en tant que *P. moricola* (P. Henn.) Homma (Takamatsu et coll., 1982). Le pathogène est un parasite semi-obligé et il est plus présent sous les tropiques et les régions tempérées pendant les saisons après les pluies et l'hiver. La température de 24 à 28° C et l'humidité relative entre 60 et 80 % sont optimales pour le développement de la maladie. Elle diminue le rendement foliaire jusqu'à 12 % et les feuilles malades ont moins d'humidité et de teneur en protéines (Teotia et Sen, 1994 ; Qadri et coll., 1998 ; Sharma, 2004). La maladie se propage par les conidies principalement par le vent et apparaît comme des pans blancs poudreux sur la surface inférieure des feuilles. Les parties correspondantes des pans blancs poudreux sur l'autre côté (surface supérieure) des feuilles se développent comme des lésions chlorotiques. Lorsque la maladie est sévère, les pans blancs poudreux deviennent marron - noir et les feuilles deviennent jaunes (Sharma, 2004).

Lutte contre la maladie :

Les extraits de têtes d'ail (*Allium sativum*), de funicules d'*Acacia auriculiformis*, de feuilles de margousier et de *Pongamia pinnata* s'avèrent efficaces contre le mildiou poudreux dans des conditions *in vitro* et *in vivo* (Datta et coll., 1997 ; Gangwar et coll., 2000 ; Vidyasagar et Rajasab, 2001). Sur le terrain, les extraits de feuilles de *Calotropis gigantea* et d'*Adhatoda zelanica* diminuent l'incidence de la maladie du mildiou poudreux de 23 à 56 %. (Biswas et coll., 1995). On a signalé que les coccinelles jaunes, *Illeis cincta* Fab. et *L. indica* Timb. sont des prédateurs de *P. corylea*, qui provoque le mildiou poudreux chez le mûrier. Ces prédateurs se nourrissent sur les conidies et sur les mycelium de *P. corylea*. On observe que les prédateurs qui se nourrissent sur le mildiou poudreux ont un cycle de vie plus long et suppriment le champignon en s'en nourrissant. Le champignon (*P. corylea*) ne se régénère pas sur les feuilles infestées décimées par les prédateurs (Reddy et coll., 1989 ; Teotia et coll., 1992 ; Bhattacharjee et coll., 1994 ; Kumar et Chowdary, 2001). Par ailleurs, on a aussi signalé un champignon, *Cladosporium* spp. hyperparasite des conidiophores et des conidies de *P. corylea* chez le mûrier (Rao et Sullia, 1981).

La méthode chimique comme la vaporisation de 0,2 % de Karathane (Dinocap 30 % EC) / de Bavistine sur la surface inférieure des feuilles de mûrier s'avère efficace contre la maladie du mildiou poudreux, elle permet une diminution de 65 à 70 % de la maladie et on peut nourrir le ver à soie sans risque avec les feuilles traitées, 2 à 3 jours après la vaporisation (Govindaiah et coll., 1994).

3. Rouille de la feuille :

Le mûrier est attaqué par plusieurs pathogènes de la rouille (parasites obligés). Parmi eux, les rouilles noire et rouge sont les plus courantes. La rouille noire de la feuille est provoquée par *Cerotelium fici* (Cast.) Arthur et connue aussi en tant que *Peridiospora mori* Barclay (Prasad et coll., 1993), tandis qu'on signale qu'*Aecidium mori* (Sydow & Butler) Barclay provoque la rouille rouge. La maladie se produit à la fois pendant les saisons après les pluies et en hiver et entraîne une perte de rendement foliaire jusqu'à 15 %. En plus de la perte d'ordre quantitatif, la teneur en humidité, en protéines et en sucres diminue (Sundareswaran et coll., 1988 ; Teotia et Sen, 1994 ; Pratheesh Kumar et coll., 2000). La température de 22-26° C et une humidité relative élevée de plus de 70 % sont optimales pour le développement de la maladie (Sharma et coll., 1996). La maladie commence à progresser entre le 45^{ème} et le 50^{ème} jour après la taille et devient sévère le 70^{ème} jour après la taille et les feuilles matures sont plus sensibles à la maladie. Elle se propage par les uredo / aecidiospores qui sont dispersées par le vent et les courants aquatiques. La rouille noire de la feuille atteint la feuille de mûrier et apparaît comme des lésions éruptives marron – noires circulaires de la taille d'une tête d'épingle sur les deux surfaces des feuilles de mûrier. Cependant, la rouille rouge atteint les jeunes bourgeons, les feuilles, les pétioles et les pousses. Les bourgeons atteints deviennent gonflés et se recroquevillent en formes anormales avec beaucoup de taches protubérantes jaune doré. Sur les deux surfaces des feuilles atteintes, de nombreuses petites taches rondes, brillantes colorées apparaissent sous la forme de substance poudreuse (Sharma, 2004).

Lutte contre la maladie :

D'après les données météorologiques, on a remarqué que les Jours Après la Taille (DAP : fourchette favorable ; 35 à 70 jours) et l'humidité moyenne (AH : fourchette favorable 68,9 à 84,4 %) sont positivement corrélés et contribuent significativement au développement de la maladie. On a déduit une équation à double variable en utilisant l'analyse de régression dégressive pour la prédiction de la sévérité de la rouille noire de la feuille (Naik et coll., 2004 ; 2008 a).

Prévision de la sévérité de la maladie de la rouille noire de la feuille (%) =

$$- 66,18 + 0,80^{**} (DAP) + 0,45^{*} (AH) \text{ avec une valeur } R^2 \text{ de } 0,95$$

De plus, on a suggéré que pendant les saisons des pluies et de l'hiver, il faut commencer les mesures préventives contre la rouille noire de la feuille en fonction des besoins avant le 45^{ème} jour après la taille (Naik et coll., 2004).

Sur le terrain, les extraits de feuille d'*Adhatoda zelyanica* et d'*Azadirachta indica* diminuent fortement l'incidence de la maladie de la rouille noire de la feuille (Biswas et coll., 1995). On a évalué douze microbes du phylloplane isolés sur des feuilles de mûrier saines contre la rouille noire de la feuille. Parmi eux, deux agents biologiques, *T. harzianum* (Th-1) et *T. pseudokoningii* (Tp) s'avèrent efficaces et ont été évalués sur le terrain. L'application combinée de Th-1 et de Tp diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 44 % par rapport au témoin (Sharma et Gupta, 2000). Parmi les différentes rhizobactéries qui promeuvent la croissance des plantes, l'application combinée d'*A. chroococcum* (Azc-3) et de *P. fluorescens* (Psf-4) s'avère efficace pour induire la résistance systémique chez le mûrier contre la rouille noire de la feuille et elle supprime la sévérité de la maladie jusqu'à 68 % sur le terrain et empêche la perte de rendement foliaire de 13 % par rapport au témoin (Gupta et Sharma, 2004).

On a recommandé les fongicides, comme la vaporisation de 0,2 % de Kavach (Chlorothalonil 75 % WP) et de Blitox (oxychlorure de cuivre 50 %, WP) sur les feuilles pour la lutte respectivement contre les maladies de la rouille noire et rouge et cela diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 60-65 %. On peut nourrir les vers à soie sans risque avec les feuilles traitées au fongicide 5 jours après la vaporisation (Gunasekhar et coll., 1995 ; Teotia et coll., 1994).

4. Flétrissure fongique de la feuille :

La flétrissure fongique de la feuille est provoquée par plusieurs types de pathogènes comme *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Fusarium pallidroseum* (Cooke) Sacc., *F. lateritium* Nees. F sp. *mori* (Desm.) Matuo et Sato, *Colletotrichum gloesporioides* (Penzig) Penzig et Sacc. et *Helminthosporium tetramera* Mc. Kinney. Parmi eux, *A. alternata* et *F. pallidroseum* sont les plus couramment observés dans les muraies (Teotia et Sen, 1994 ; Sharma et coll., 2005) et ils diminuent le rendement foliaire jusqu'à 10 %, tout en détériorant la qualité de la feuille. La température de 25-30° C et l'humidité relative de 40 à 60 % sont favorables à l'éruption de la maladie (Raju, 1998). Les symptômes de la maladie apparaissent comme un brunissement / noircissement des feuilles qui commence à partir de l'extrémité de la feuille ou à partir des bords du limbe de la feuille, sous la forme de pans marron irréguliers isolés. Alors que la maladie se propage, la surface entière de la feuille est affectée, ce qui entraîne la chute des feuilles (Sharma, 2004).

Lutte contre la maladie :

On a signalé que les agents biologiques tels que *T. harzianum*, *T. viride* et *Gliocladium virens* sont antagonistes pour *A. alternata* et *F. pallidroseum* qui provoquent la flétrissure fongique de la feuille chez le mûrier (Raju, 1998). Quand on vaporise un isolat de *T. harzianum* (THR-2) sur les plants de mûrier, cela diminue à la fois l'incidence de la maladie d'*A. alternata* et de *F. pallidroseum* sur le terrain jusqu'à 60 à 65 % (Raju, 1998).

Avec la méthode chimique, la vaporisation foliaire de 0,2 % Dithane M-45 (Mancozeb 75 % WP) s'avère efficace contre la maladie de la flétrissure de la feuille, elle diminue la sévérité jusqu'à 65 % et on peut alimenter les vers à soie avec les feuilles traitées sans risques 2 à 3 jours après la vaporisation (Raju, 1998).

5. Flétrissure bactérienne de la feuille :

Elle est provoquée par *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (Boyer & Lambert) Young, Dye & Wilkie. Par ailleurs, les espèces de *Xanthomonas* comme *X. campestris* pv. *mori* (Pommel) Dowson et *X. campestris* pv. *moricola* est une autre série de pathogènes bactériens provoquant la flétrissure de la feuille de mûrier (Sharma, 2004 ; Sharma et coll., 2005). Parmi eux, les flétrissures bactériennes provoquées par *P. syringae* pv. *mori* et *X. campestris* pv. *mori* sont plus importantes pendant les saisons des pluies et de l'hiver et on observe environ 8 à 12 % de perte de rendement foliaire chaque année, ainsi qu'une détérioration de la qualité de la feuille (Sharma et coll., 2005). La température atmosphérique entre 20 à 30° C et une humidité élevée (plus de 80 %) sont favorables au développement de la maladie (Teotia et Sen, 1994 ; Gangwar et Thangavelu, 1991 ; 1995 ; Sharma et coll., 2000 ; Sharma et coll., 2005).

Lutte contre la maladie :

On a testé l'efficacité de divers produits commerciaux à base de plantes dans des conditions *in vitro* contre *P. syringae* pv. *mori* et *X. campestris* pv. *mori* provoquant la flétrissure bactérienne. Parmi eux, le Neem gold (Azadirachtine 0,15 % EC) donne une zone d'inhibition jusqu'à 28,3 mm (Sharma et coll., 2001). Les agents biologiques comme *P. fluorescens* (Pf-2) et *T. harzianum* (Th-1) s'avèrent les plus efficaces dans des conditions *in vitro* contre *P. syringae* pv. *mori* et *X. campestris* pv. *mori*, en présentant une zone d'inhibition nette de 26-28 mm (Baqual et coll., 2000).

On a signalé que le fongicide tel que le Dithane M-45 (0,2 %) est efficace contre la maladie de la flétrissure bactérienne (Maji et coll., 2000 ; Sharma et coll., 2005) et on peut alimenter les vers à soie sans risque avec des feuilles 2 à 3 jours après la vaporisation (Sharma, 2004).

LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES PAR LA RESISTANCE DE L'HÔTE ET LES PRATIQUES CULTURALES

Les approches écologiques pour lutter contre les maladies des plantes sont des alternatives sans risques aux fongicides. Dans cette optique, l'utilisation de la résistance de l'hôte, les pratiques culturales / agronomiques et les mesures phytosanitaires sont importantes puisqu'elles ne sont pas toxiques et sont sans risque pour l'environnement.

1. Résistance de l'hôte :

La plantation de variétés résistantes aux maladies est la meilleure approche pour éviter la perte de récolte chez le mûrier. Jusqu'à présent, on a accordé moins d'attention au breeding de la résistance à la maladie chez le mûrier. Plusieurs chercheurs (Philip et coll., 1994 ; Gangwar et Thangavelu, 1995 ; Prasad et coll., 1999 ; Sharma, 2004) ont évalué plusieurs variétés de mûrier pour identifier la source de la résistance / de la sensibilité contre les principales maladies foliaires qui pourraient être utiles pour la mise au point d'un programme de lignage de variétés résistantes. Aucune variété / génotype ne s'avère complètement résistant aux maladies foliaires du mûrier. Les variétés de mûrier populaires et leurs réactions aux principales maladies foliaires sont présentées dans le Tableau I.

2. Utilisation des pratiques culturales :

On sait que des pratiques culturales / agronomiques variées telles que l'espacement des plants, les méthodes de taille, l'application équilibrée d'engrais, la gestion des mauvaises herbes diminuent la sévérité de la maladie de manière considérable chez le mûrier. La plantation du mûrier avec un espacement plus large (90 cm × 90 cm) et un système de deux rangées (90 cm + 150 cm) permet de réduire l'incidence des maladies foliaires telles que la tache marron de la feuille, le mildiou poudreux, la rouille noire, la flétrissure fongique de la feuille et la flétrissure bactérienne de l'ordre de 25 à 30 %, par comparaison à un espacement plus étroit (60 cm × 60 cm / 60 cm × 30 cm) qui crée des conditions idéales pour la multiplication des pathogènes à cause de la mauvaise aération. De même, on observe une diminution d'environ 21 à 25 % de la sévérité de la maladie dans le cas de la taille médiane (40 cm au-dessus du niveau du sol) par rapport à la taille basale. Une incidence plus élevée de la maladie avec une taille au niveau du sol pourrait être due à un contact et une entrée plus faciles des pathogènes ou bien au stade d'hibernation des pathogènes présents dans le sol / dans les débris et à l'entrée par les extrémités taillées des plants. De même, on a aussi observé la diminution de l'incidence des maladies foliaires ci-dessus avec différents types d'application d'engrais comme l'application d'une quantité élevée de phosphore (300 : 180 : 120 kg NPK), l'application de bioengrais bactériens et de VAM qui diminuent la sévérité de la maladie de 30-35 % par rapport au témoin (dose recommandée de 300 : 120 : 120 kg NPK). La culture alternée de soja, de pois chiche vert, de cultures fourragères telles que le ragi et le maïs entre les rangées de mûrier avec un espacement plus large diminue aussi l'incidence de la rouille rouge (Sharma et coll., 1995 ; 1996 ; Prasad et coll., 1999 ; Govindaiah et Sharma, 2001).

3. Utilisation de mesures phytosanitaires :

La méthode phytosanitaire écologique est la méthode écologique la plus pratique pour lutter contre les maladies des plantes. Le retrait des mauvaises herbes des muraies joue un rôle important pour lutter contre les maladies puisqu'elles agissent comme des hôtes alternés pour des pathogènes variés du mûrier. Les débris des cultures sont l'une des principales sources d'inoculum dans la muraille. Les débris des cultures laissés dans la muraille possèdent souvent un inoculum des pathogènes sous la forme de spores et de mycelium, qui demeurent inactifs pendant les conditions défavorables et infestent la plante quand les conditions deviennent favorables. Il faut donc se débarrasser des débris soit en les brûlant soit en en faisant du compost (Sharma, 2004).

MALADIES DU MURIER VEHICULEES PAR LE SOL

Nous présentons les principales maladies véhiculées par le sol, qui affectent la culture du mûrier et comment lutter contre elles par des approches écologiques.

1. Maladies de pépinière :

On multiplie principalement le mûrier par des boutures de tige, soit en faisant pousser les jeunes plants en pépinière, soit en plantant directement des boutures sur le terrain principal. On a observé que plusieurs blessures peuvent être infligées lors de la préparation des boutures de tige. Ces blessures sont le principal portail d'entrée de nombreux pathogènes véhiculés par le sol, qui provoquent des maladies variées comme le **chancre de la tige** (*Botryodiplodia theobromae* Pat.), caractérisé par la présence d'éruptions vert noir sur les boutures, le **pourriture des boutures** [*Fusarium solani* (mart.)], qui apparaît comme le dessèchement des boutures entières, le **pourriture du collet** [*Phoma mororum* Sacc. et *P. sorghina* (Sacc.) Boerema et coll.,] qui se manifeste comme une décoloration marron à noire de l'écorce près de la ligne du sol et le **dépérissement** (*B. theobromae*) qui se caractérise par la flétrissure des jeunes plants. Parmi elles, la pourriture des boutures et le chancre de la tige ont un effet sur la prise des boutures, tandis que la pourriture du collet et le dépérissement se produisent pendant le stade des jeunes plants. Ces maladies provoquent une mortalité des boutures et des jeunes plants de l'ordre de 40 à 45 % (Gupta et Sarkar, 1999 ; Sharma et coll., 2003).

Lutte contre la maladie :

Les méthodes physiques comme le labourage profond et l'exposition du sol à la lumière du soleil après l'avoir recouvert avec des feuilles de polyéthylène transparent (épaisseur de 30 µm) pendant environ 3 mois contribue à la diminution de divers pathogènes véhiculés par le sol provoquant les maladies de pépinière (Sharma et Gupta, 2005). Pour la lutte biologique contre les maladies de pépinière, on a mis au point un biofongicide, le Nursery-Guard produit par *T. pseudokoningii* Rifai (un produit du CSRTI, de Mysore) et on l'a recommandé après l'avoir mélangé avec du fumier (FYM) au ratio de 1 : 60 en le stockant à l'ombre pendant une semaine pour augmenter les colonies de *T. pseudokoningii*. Après, on répand le mélange dans les pépinières à raison de 2 kg / m² et on l'incorpore dans le sol en remuant légèrement ; il faut planter les boutures dans des pépinières traitées et procéder ensuite à l'irrigation. La technologie augmente la survie des boutures jusqu'à 30 % par rapport au témoin. Lorsqu'on applique un mélange de Nursery-Guard dans le sol et qu'on trempe les boutures de tige dans une solution de Dithane M-45 à 0,1 % pendant une demi-heure avant la plantation, cela améliore encore la survie des jeunes plants jusqu'à 40 % par rapport au témoin, tout en améliorant la santé du sol et des jeunes plants (Gupta et Sarkar, 1999). L'amélioration de la survie des jeunes plants jusqu'à 40 % est due à l'effet synergétique du Nursery Guard et du Dithane M-45. La présence de *T. pseudokoningii* dans le Nursery Guard inhibe la croissance des pathogènes provoquant les maladies de pépinière par le processus de concurrence (colonisation), l'hyper parasitisme et l'antibiose (production d'enzymes hydrolytiques et de composés antifongiques). De plus, *T. pseudokoningii* stimule la croissance des jeunes plants car on sait aussi qu'il produit des substances de promotion de la croissance (Tronsmo, 1996 ; Sharma et Gupta, 2005). D'autre part, le Dithane M45 que l'on utilise pour panser les boutures, tue les pathogènes présents dans les boutures et contient la contamination primaire (Sharma et Gupta, 2005).

On a aussi réalisé des études pour analyser l'effet du compost préparé à base de résidus séricicoles (détritus du ver à soie + déchets d'élevage) enrichis avec du phosphate de roche, des microbes utiles (bactéries solubilisant le phosphate et *Azotobacter*) et antagonistes (*T. harzianum* et *T. pseudokoningii*) sur la suppression des maladies de pépinière. Le compost enrichi après l'avoir mélangé avec du tourteau de margousier (2 : 1) au taux de 2 kg / m² améliore la prise et la survie des boutures jusqu'à 45 % par rapport au témoin. La méthode est écologique, tout en améliorant la santé du sol (Sharma et coll., 2008).

Avec la méthode chimique, il faut tremper les boutures de tige dans une solution de Dithane M-45 à 0,1 % pendant une demi-heure avant la plantation et les boutures traitées ont besoin d'être plantées dans les plate-bandes des pépinières. Par ailleurs, il faut vaporiser les jeunes plants de 25 à 30 jours avec une solution de Bavistin à 0,2 %. La méthode diminue la mortalité des jeunes plants de 15 à 20 % (Sharma et Gupta, 2005).

2. Maladie de la pourriture de la racine :

La pourriture de la racine est la maladie la plus dangereuse en raison de sa nature épidémique et de son potentiel à complètement tuer les plantes. On observe la maladie dans presque toutes les zones de culture du mûrier. On a signalé différents types de pourriture de la racine, telles que la pourriture sèche de la racine [*F. solani* (Mart.) Sacc. / *F. oxysporum* Schlecht], la pourriture noire de la racine [*Botryodiplodia theobromae* Pat.] et la pourriture charbonneuse de la racine [*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid] sur le mûrier (Sharma et coll., Sharma et Gupta, 2005). De plus, on a observé la mort rapide des plants et la nature épidémique de la maladie en raison de la complexité microbienne (implication de plus d'un pathogène) et on a identifié les pathogènes en tant que *F. solani* (Fs.), *F. oxysporum* (Fo), *B. theobromae* (Bt) et *M. phaseolina* (Mp). On constate que Fs, Fo et Bt sont fréquemment associés et provoquent la maladie de la pourriture de la racine dans différentes parties de l'Inde comme le Karnataka et le Tamil Nadu, tandis qu'on observe Fs, Fo et Mp dans l'Andhra Pradesh (Chowdhary et coll., 2003). On a signalé la maladie tout au long de l'année dans tous les types de sol dans des conditions agro-climatiques variées ; elle entraîne une mortalité des plants de l'ordre de 30 % avec une perte de rendement foliaire jusqu'à 14 % à cause du dessèchement et de la mort des plants (Sharma et coll., 2003).

La maladie apparaît au début chez quelques plants dans des endroits isolés, qui agissent en tant que centres infectieux pour la propagation de la maladie, ce qui entraîne la mort des plants établis en l'espace d'une courte période (Philip et coll., 1995 ; 1997 ; Chowdhary et coll., 2003 ; Sharma et Gupta, 2005). Une température du sol comprise entre 26 et 35° C, une humidité du sol en dessous de 40 % et un pH du sol de 5 à 10 sont favorables au développement de la maladie. L'incidence de nématodes améliore l'intensité de la pourriture de la racine, puisque les nématodes provoquent des blessures sur les racines lorsqu'ils s'alimentent / et pénètrent, qui agissent comme des points d'entrée pour les pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine (Sharma et coll., Naik, 2006).

Lutte contre la maladie :

Les facteurs édaphiques jouent un rôle important dans l'éruption de la maladie de la pourriture de la racine et la gestion de ce genre de facteurs contribue à diminuer la présence de la maladie. On a observé que l'éruption de la maladie est plus importante dans les sols alcalins et sablonneux (à la fois noirs et rouges) avec une faible humidité du sol (en dessous de 40 %) et de faibles teneurs en nutriments (OC, N, P et Zn). On peut empêcher la maladie grâce à une application d'engrais basée sur un test du sol et des méthodes de conservation de l'humidité du sol (Chowdhary, 2006).

Pour lutter de manière biologique contre la maladie de la pourriture de la racine, on a mis au point un biofongicide à base de talc, le Raksha (un produit du CSRTI de Mysore) à partir de *T. harzianum* (Th-1), qui diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 70 %. Le Raksha a besoin d'être appliqué après l'avoir mélangé avec du fumier (1 : 50) au taux de 500 g / plant dans la zone de la racine, pendant une année tous les 3 mois. *T. harzianum* ne présente pas de toxicité résiduelle pour le mûrier et les vers à soie (Philip et coll., 1996 ; Philip et coll., 2000). Un système IDM a été mis au point grâce à l'application combinée de Dithane M-45 et du mélange Raksha. Dans cette méthode, on applique dix grammes de Dithane M-45 / plant (une dose seulement avant la plantation des nouveaux plants) dans la zone de la racine. Au bout de 15-20 jours, on doit appliquer le mélange de Raksha au taux de 500 g / plant dans la zone de la racine et planter les nouveaux jeunes plants et continuer le mélange Raksha pendant un an tous les trois mois, suivi par une irrigation. La technologie permet de lutter contre la maladie jusqu'à 80 % (Sharma et coll., 2003). Dans ce cas, le Dithane M-45 diminue la charge en pathogènes dans le sol (Sharma et Gupta, 2005), tandis que *T. harzianum* présent dans le

Raksha inhibe la croissance des pathogènes par l'hyperparasitisme / la concurrence / l'antibiose. Par ailleurs, l'antagoniste produit des enzymes hydrolytiques / des composés antifongiques (chitinases, trichodermine et gluconase) qui neutralisent les pathogènes en dissolvant la paroi cellulaire (Tronsmo, 1996).

Pour une meilleure gestion de la maladie de la racine provoquée par *F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* et *M. phaseolina*, on intègre le Raksha dans la bioformulation de *P. fluorescens* (Psf-7) avec le fumier (1 : 1 : 50). On applique le mélange au taux de 500 g / plant, ce qui diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 85 % sans aucune toxicité résiduelle pour les vers à soie (Chowdary et coll., 2004). Le compost préparé à partir de résidus séricicoles enrichis avec du phosphate de roche, des microbes utiles (bactéries solubilisant le phosphate et *Azotobacter*) et antagonistes (*T. harzianum* et *T. pseudokoningii*) après les avoir mélangés avec du tourteau de margousier (2 : 1) au taux de 250 g / plant, s'avère efficace pour lutter contre la maladie de la pourriture de la racine provoquée par *F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* et *M. phaseolina* de l'ordre de 74,3 % et améliorer le rendement foliaire jusqu'à 37 % par rapport au témoin (Sharma et coll., 2006).

Pour lutter efficacement de manière écologique contre la pourriture charbonneuse de la racine, on recommande l'application dans le sol de *T. harzianum* / *T. viride* après les avoir mélangés avec du tourteau de margousier et du fumier (1 : 10 : 40) à raison de 500 g, ce qui diminue la sensibilité de la maladie jusqu'à 86 à 89 % et empêche la perte de rendement foliaire jusqu'à 52 % sans aucune toxicité résiduelle pour les vers à soie (Chowdhary, 2006).

Gangwar et Thangavelu (1991) ont signalé que les variétés de mûrier S-36 et S-34 sont sensibles aux pathogènes de la pourriture de la racine par comparaison à K-2 et MR-2. Philip et coll., (1995) ont apporté des informations sur la sensibilité plus élevée à la pourriture de la racine provoquée par *F. solani* / *F. oxysporum* chez les variétés S-34 (55,6 %) et S-13 (53,5 %) que chez la variété locale de Mysore (19,4 %). Vingt génotypes de mûrier ont été évalués contre la pourriture de la racine *Macrophomina* dans des conditions naturelles et aucun des génotypes ne s'avère résistant (Chowdary, 2006).

Philip et coll., (1995) ont proposé une méthode chimique pour lutter contre la pourriture de la racine, qui inclut de tremper les racines des jeunes plants dans une solution de Bavistine à 0,1 % pendant une demi-heure et de les planter dans des trous saupoudrés avec 10 g de Dithane M-45, après avoir retiré le sol autour des plants infestés. Si la maladie est très sévère, il faut déraciner et détruire les plants atteints. Il faut appliquer 10 g de Dithane M-45 / trou dans les endroits malades et il faut planter de jeunes plants traités avec de la Bavistine. Il faut continuer l'application pendant un an tous les trois mois. En adoptant cette méthode, on peut lutter contre la maladie à 65-70 %.

3. Maladie du nématode de la racine :

La maladie de la racine provoquée par le nématode, *Meloidogynne incognita* (Kofoid & White) Chitwood est aussi une maladie sévère du mûrier et elle est présente dans presque toutes les zones séricicoles. Bien qu'on ait signalé que les six principales espèces de *Meloidogynne*, c'est-à-dire *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. arenariformis* et *M. mali* provoquent la maladie du nématode de la racine chez le mûrier, l'étude montre que *M. incognita* est plus répandue dans les sols sablonneux avec une agriculture irriguée (Narayanan et coll., 1966 ; Todia, 1984 ; Govindaiah et coll., 1994 ; Philip et coll., 1997 ; Minamizawa, 1997 ; Sharma et Sarkar, 1998 ; Ertian, 2003). La maladie se manifeste sous la forme de galle / de nœuds sur les racines, ce qui entraîne un retardement de la croissance et une perte de vigueur du plant (Narayanan et coll., 1966). La maladie provoque une diminution du rendement foliaire de l'ordre de 12 %, tout en affectant la qualité surtout les protéines de la feuille (Paul et coll., 1995 ; Sharma, 1999). Une température du sol de 15-35° C (la température optimum étant de 20 à 30° C), plus de 60 % d'humidité du sol et un pH du sol de 4 à 8 sont favorables au développement du nématode (Sharma et Gupta, 2005).

Lutte contre la maladie :

Avec la méthode physique, on peut diminuer la population des nématodes dans les muraies infestées en creusant / en labourant profondément à une profondeur de 30 – 40 cm pendant l'été. La température plus élevée et l'humidité plus faible obtenues grâce à cette pratique permettent de tuer les œufs et les larves du nématode présents dans le sol, puisqu'ils sont sensibles à la chaleur (Minamizawa, 1997 ; Sharma, 1999). De plus, on peut suivre avec un traitement à l'eau chaude des jeunes plants de mûrier infestés pour l'élimination de la population de nématodes en trempant le système racinaire dans de l'eau chaude (48 à 50° C pendant 20 minutes) et en les transplantant sur le terrain principal (Sharma et Govindaiah, 1996 ; Ertian, 2003). L'application dans le sol de tourteau de margousier (obtenu à partir de graines d'*Azadirachta* spp. après l'extraction de l'huile) au taux de 2 t / ha / an (en quatre doses égales séparées) autour de la base des plants pendant les opérations interculturelles / l'application d'engrais diminue la galle de la racine et les masses d'œuf du nématode de l'ordre de 65 à 70 % (Govindaiah et coll., 1997 ; Sharma, 1999).

L'inondation du sol avec l'extrait d'*Acacia auriculiformis* (2g / litre) à raison de 20 ml / plant diminue significativement l'infestation par les nématodes (galles / plant) jusqu'à 70 à 75 % par rapport au témoin dans les conditions sur le terrain. On obtient l'extrait en dissolvant les funicules d'*Acacia* réduites en poudre dans de l'éthanol à 90 % et on le sèche à l'air avec du chlorure de calcium anhydre. Plus tard, on dissout les résidus dans de l'eau et on les applique dans les parcelles (Datta et coll., 1997). Le paillage avec des feuilles vertes de margousier (*Azadirachta indica*) et de pongamia (*Pongamia glabra*) à raison d'1 tonne / ha / récolte dans le sol diminue significativement l'incidence de la maladie du nématode de la racine de l'ordre de 65 à 70 % et empêche une perte de rendement foliaire de 20 à 25 % par rapport au témoin (Govindaiah et coll., 1997). On a signalé l'utilisation de plants d'amaranthe (*Amaranthus viridis* L.) comme culture piège pour lutter contre *M. incognita* chez le mûrier. La culture alternée d'amaranthes entre deux rangées de mûriers dans un terrain naturellement infesté par le nématode diminue la sévérité de la maladie (galle / plant) de l'ordre de 75 à 80 %. On a aussi observé que l'amaranthe est plus sensible aux nématodes que le mûrier, les nématodes préfèrent donc se nourrir sur les racines d'amaranthe que sur le mûrier (Datta et Datta, 2007).

Une stratégie IDM écologique a été mise au point, impliquant l'application de Bionema à base de talc produit par *V. chlamydosporium* (un produit du CSRTI, de Mysore) avec du tourteau de margousier pour lutter efficacement contre la maladie du nématode de la racine. On recommande le Bionema après l'avoir mélangé avec du tourteau de margousier et du fumier (1 : 24 : 200) à raison de 200 g / plant autour des racines (3 fois / an à 4 mois d'intervalle) pendant les opérations culturales / l'application d'engrais suivi par une irrigation. La technologie diminue la sévérité de la maladie de 85 à 90 % et empêche une perte de rendement foliaire de l'ordre de 23 % (Sharma, 1999). La diminution maximum de la sévérité de la maladie est due à l'effet complémentaire du Bionema et du tourteau de margousier. *V. chlamydosporium* présent dans le Bionema parasite les œufs de *M. incognita* et stoppe l'éclosion (Davies et coll., 1991 ; De Leij et Kerry, 1991), tandis que les composés présents dans le tourteau de margousier (nimbidine, thionémone, phénols) tuent les larves du nématode présentes dans le sol (Alam, 1993 ; Sharma et Gupta, 2005). Comme il n'y a pas de toxicité résiduelle pour le ver à soie, on peut appliquer la méthode à n'importe quel moment de la période de culture (Sharma et coll., 2004). Par ailleurs, on a mis au point une méthode pour une meilleure lutte contre la maladie en plantant des variétés de mûrier telles que S-13 / S-34 avec l'application de Bionema + tourteau de margousier dans le sol dans les zones sujettes à la maladie, ce qui diminue la sévérité des nématodes de 85 à 93 % (Sharma et coll., 2001a).

La technologie, Bionema (B) + tourteau de margousier (NOC) [BNOC] s'avère compatible avec les engrais biologiques bactériens, les VAM et le Vermicompost et on peut l'intégrer. Les résultats révèlent que l'application combinée de BNOC avec les VAM diminue la sévérité de la maladie jusqu'à 94,3 % (contre 86 % avec BNOC), en empêchant une perte de rendement foliaire de l'ordre de 29,2 % sans aucune toxicité résiduelle pour les vers à soie (Sharma et coll., 2005 a).

L'application de compost préparé à partir de résidus séricicoles, enrichis avec du phosphate de roche, des microbes utiles (bactéries solubilisant le phosphate et *Azotobacter*) et antagonistes (*T. harzianum* et *T. pseudokoningii*), après les avoir mélangés avec du tourteau de margousier (2 : 1) à raison de 250 g / plant s'avère diminuer la sévérité de la maladie jusqu'à 80,7 %, tout en empêchant une perte de rendement foliaire jusqu'à 28,5 % par rapport au témoin (Sharma et coll., 2006).

On a évalué environ 250 génotypes de mûrier pour identifier la source de résistance / sensibilité à la maladie du nématode de la racine. Les résultats révèlent qu'aucun d'eux ne s'avère résistant à la maladie. Cependant, les variétés comme S-13, S-30, S-1096, RFS-135 et Assambola s'avèrent être modérément résistantes à la maladie et sont recommandées pour être utilisées dans des programmes de lignage pour mettre au point des variétés résistantes aux nématodes (Govindaiah et coll., 1996 ; Sharma et coll., 2001a). Par ailleurs, Mohana (2003) a évalué 7 variétés de mûrier contre *M. incognita*, parmi lesquelles 3 variétés, c'est-à-dire, RFS-135, MR-2 et Palladam local s'avèrent résistantes tandis que K-2, V-1, DD et S-54 s'avèrent sensibles à la maladie du nématode de la racine.

L'application dans le sol de nématicides comme le Furadan 3 G (Carbofuran) au taux de 40 kg / ha / an ou de Rugby 10G (Sebufos) au taux de 30 kg / ha / an en quatre doses séparées à 3 mois d'intervalle peut diminuer efficacement les galles des racines et les masses d'œufs du nématode de 70 à 75 %, en entraînant une amélioration du rendement foliaire de 12 à 16 %. Après 40 à 45 jours d'application des nématicides, on peut utiliser les feuilles pour l'élevage du ver à soie (Govindaiah et coll., 1993 ; 1997).

4. La maladie de la racine :

L'ensemble de la maladie de la racine est devenu récemment une contrainte majeure de la production dans la culture du mûrier. Il est provoqué par l'association du nématode de la racine (*M. incognita*) avec les pathogènes de la pourriture de la racine, c'est-à-dire *B. theobromae* et *F. solani* dans l'agriculture irriguée. On observe une intensité plus élevée de l'ensemble de la maladie de la racine dans les sols sablonneux, avec le système racinaire présentant plus de 100 galles de nématode / plant associé à une infestation par *B. theobromae* et *F. solani*. L'ensemble de la maladie est caractérisé par un ralentissement de la croissance de la plante, un jaunissement et la flétrissure / le dessèchement des feuilles. Le système racinaire présente une formation de galles (par le nématode) avec un dépérissement / un pourrissement des racines provoqués par l'attaque fongique. Lorsque l'infestation est sévère, tout le système racinaire pourrit et les plants meurent dans certains endroits de la muraie (Naik et coll., 2004a ; Naik, 2006).

Lutte contre la maladie :

Pour lutter efficacement contre l'ensemble de la maladie de la racine, on recommande une méthode intégrée comprenant un bio-consortium. On a mis au point un bio-consortium en utilisant des agents biologiques indigènes (*T. harzianum* et *T. viride*) isolés de la rhizosphère du mûrier et il faut l'appliquer après l'avoir mélangé avec du tourteau de niger (*Guizotia abyssinica* L.) et du fumier (1 : 10 : 50) au taux de 200g / plant près de la zone de la racine, après avoir enlevé le sol à une profondeur de 15 cm pendant les opérations culturales, suivis par l'irrigation quand les symptômes comme la flétrissure / le dessèchement des feuilles apparaissent sur les plants. Il faut répéter l'application 3 fois par an. La technologie diminue la sévérité de la maladie de l'ordre de 75 à 80 % et empêche une perte de rendement foliaire jusqu'à 35-40 % (Naik, 2006).

On a évalué seize variétés de mûrier populaires pour leur réaction au complexe de la maladie de la racine et aucune des variétés ne s'avère résistante. Cependant, la variété S-13 s'avère modérément résistante et les variétés comme Local, K-2, S-34, S-36, et S-54 sont sensibles tandis que MR-2, S-1, S-1635, V-1, AR-10, AR-12, G-2, G-4, RC-1 et RC-2 s'avèrent très sensibles à l'ensemble de la maladie de la racine. La lutte contre la maladie est donc importante dès les premiers stades pour une production durable de feuilles (Naik, 2006).

Chetak – une formulation à base d’herbes pour lutter contre les principales maladies du mûrier foliaires et véhiculées par le sol :

Chez le mûrier, on lutte contre les maladies foliaires et véhiculées par le sol, en utilisant des fongicides et des bioformulations chimiques soit individuellement ou en combinaison. Cette application individuelle / combinée de pesticides / d’agents biologiques variés spécifiques à chaque maladie (foliaire et racinaire) pose des problèmes pour l’adoption de la technologie par les sériciculteurs. Pour surmonter ces problèmes, un nouveau produit, le Chetak (CSR&TI, Mysore, Inde) utilisant des substances botaniques et des doses semi-léthales de produits chimiques (35 %) a été mis au point. Le Chetak est écologique et on peut l’utiliser pour lutter contre les principales maladies foliaires et véhiculées par le sol. Pour lutter contre les maladies foliaires, on recommande la vaporisation de solution de Chetak à 0,5 % sur les feuilles, tandis que pour la lutte contre les maladies de la racine, on le recommande après l’avoir mélangé avec de la chaux et du chlorure de chaux (1 : 1 : 0,5) au taux de 50 g / trou à une profondeur de 15 cm suivie par l’irrigation. On a testé l’efficacité du Chetak dans 195 muraies des états du sud de l’Inde et on l’a trouvé efficace pour diminuer la sévérité de différentes maladies foliaires comme la tache de la feuille, le mildiou poudreux, la rouille de la feuille et les flétrissures de la feuille de l’ordre de 62 à 82 % et les maladies de la racine [maladies de pépinière, nématode de la racine, pourriture de la racine et complexe de la maladie de la racine] jusqu’à 85-90 %. On peut alimenter les vers à soie avec les feuilles au bout de 5 jours après la vaporisation / l’application (Sharma et coll., 2008a).

CONCLUSION

La culture du mûrier est une activité vitale dans l’élevage du ver à soie puisque le succès de l’élevage du ver à soie dépend de la qualité et de la quantité de feuilles de mûrier récoltées par unité de surface. Comme chez n’importe quelle culture agricole et horticole, plusieurs maladies provoquées par les champignons, les bactéries et les nématodes atteignent le mûrier. Pour obtenir le niveau désiré de mesures de lutte, il est nécessaire d’établir un diagnostic précis de la maladie pour sauver la plante en adoptant les mesures de lutte adaptées. La méthode la plus courante et efficace pour lutter contre les maladies du mûrier est l’utilisation de pesticides chimiques. Bien que l’on considère les méthodes non chimiques comme des alternatives sans risque aux pesticides chimiques, l’approche individuelle est surtout efficace en conditions de laboratoire / de serre et moins réussie sur le terrain, surtout quand l’intensité de la maladie est très importante sur le terrain. Il faut donc mettre l’accent sur la mise au point d’une stratégie de lutte écologique intégrée contre les principales maladies foliaires et véhiculées par le sol chez le mûrier en combinant les systèmes tels que le modèle de prévision (formule de prévision), les substances botaniques, les agents de lutte biologique et les pratiques culturales efficaces. Bien que le Chetak, un produit à base d’herbes ait été récemment mis au point pour lutter contre toutes les principales maladies foliaires et véhiculées par le sol dans les états du sud de l’Inde, la recherche de nouveaux agents de lutte biologique / substances botaniques contre les pathogènes du mûrier nécessite d’être intensifiée dans d’autres zones de culture du mûrier. On pourrait aussi essayer les autres bioformulations disponibles dans le commerce utilisées pour d’autres cultures agricoles et on pourrait aussi essayer une dose semiléthale de produits chimiques (moins de 50 % de la dose recommandée) comme composant de la lutte intégrée contre les maladies du mûrier.

ROLE OF BOTANICALS IN THE MANAGEMENT OF MULBERRY PESTS AND DISEASES - A REVIEW

TOMY PHILIP*, MALA. V. RAJAN AND C. K. KAMBLE

Central Sericultural Research and Training Institute, Sreerampuram, Mysore 570008, India.

Insect pests and plant pathogens are a challenge for every crop and the temptation to wipe them out by strong chemical pesticides and fungicides is strong. Chemical pesticides may provide a quick knockdown to the attackers in the short term, but they may also kill beneficial organisms, thereby disrupting the natural ecosystem in the long run. An organic approach for the management of mulberry pests and diseases is safer, cheaper and more effective. Botanicals or plant preparations have been in use for centuries in medicine and pest control. Uses of neem leaf and garlic had been in practice by farmers of India since time imemorial. It was known that sprays made from aqueous garlic extracts have antibiotic and antifungal properties and will suppress a number of plant diseases in various crops. Plant products break down easily when exposed to light, heat or water, so they are less likely to contaminate soil or groundwater. A number of commonly available plants that are known to have insecticidal and antifungal properties have been tried in mulberry also to develop ecofriendly management strategies for pests and diseases. The present review is an attempt to document all available studies on the topic in mulberry.

Keywords: Plant extracts, botanicals, mulberry, pests, diseases, management.

INTRODUCTION

To meet the requirements of food for the expanding world population, new ways of protecting plant crops against predators and pathogens are needed, while avoiding the use of environmentally aggressive chemicals. For centuries, plant derivatives have found use in agriculture, medicine, cosmetics, livestock production, toiletries etc. Though chemicals are effective in suppressing the pest and disease attack on a variety of crops, residual toxicity of chemicals is of great concern. Constant use of fungitoxic chemicals and pesticides adds to the food chain poisoning, environmental pollution besides increasing the chain of resistance development. The significant environmental and public health problems entailed by the excessive use of chemical pesticides have led to a search for alternative products referred to as bio pesticides (Suresh Babu, 2005). Leaf extracts of many medicinal plants are known to possess deleterious effect on many agricultural pests and disease causing organisms (Shirata, 1982; Shirata and Takahashi, 1982a, 1982 b; Viroj *et al.*, 1995; Carlini and Grossidesa, 2002). Nearly 2400 species of plants in India are reported to possess insecticidal properties (Bhaskaran and Narayanaswamy, 1995). The use of plant extracts and plant products is gaining attention due to the proven nature specificity, biodegradability, low toxicity and minimum residual toxicity on the ecosystem (Fowcett and Spenser, 1970; Grainage and Ahmed, 1988; Jespers and Ward, 1993; Pan and Deb, 1997). Considerable amount of work on the effect of plant extracts on mulberry pest and diseases have also been done and are reviewed in this paper.

* To whom correspondence should be addressed: Central Sericultural Research and Training Institute, Sreerampuram, Mysore- 570 008, India. Tel: +91-0821-2362406: Email- tomphil@rediffmail.com

MULBERRY PESTS

Considerable amount of work has been done on the effect of various plants and their extracts on pests of mulberry, especially on *Maconellicoccus hirsutus*, *Spodoptera litura*, *Spilarctia obliqua* and *Diaphania pulverulentalis*.

1) Mealy bug (*Maconellicoccus hirsutus*):

Maconellicoccus hirsutus, popularly known as mealy bug is a "hard to kill pest" and causes tukra disease in mulberry. The pest causes growth retardation at the apical portion of mulberry plant, thus seriously affecting the growth and leaf production and in turn chawki silkworm rearing. Extracts of various plants have been tested against the pest to develop ecofriendly management strategies. Babu *et al.*, (1994) have studied the effect of aqueous leaf extracts of *Azadirachta indica*, *Rhizophora apiculata*, *Adhatoda vasica*, *Parthenium hysterophorus*, *Lantana camara* and *Prosopis juliflora* on tukra in mulberry varieties M-5, S-13, MR-2, Kosen, BC2-59 and Tr-4. They have found that spray of the extracts prevented further spread of the disease in all mulberry varieties studied. Among the plants, aqueous extracts of *Azadirachta indica* and *Adhatoda vasica* were more effective. Foliar spray of the extracts did not affect the nutritional status and moisture content of the 'tukra' affected leaves and in fact all the morin factors viz., olfactory attractants, biting and chewing factors were found to be intact. There was no adverse effect when the aqueous extract sprayed leaves were fed to silkworm larvae.

The seed kernel extracts of neem and *Pongamia pinnata* were also effective to control tukra in mulberry. Neem and pongamia kernel extracts reduced the tukra incidence from 30.9 % in control to 3.85 and 5.35% respectively. Seed kernels were found to be more effective than seed oils against mealy bug. (Venugopal *et al.*, 2004; Narendra Kumar *et al.*, 2006) The ethanolic extract of the funicles of *Acacia auriculiformis* Cunn, is also reported to be effective at a dose of 160 mg/plant against *Maconellicoccus hirsutus* (Datta, *et al* 1997).

Efficacy of aqueous leaf extracts of *Eucalyptus globulus*, *Ocimum sanctum* and *Piper betle* were evaluated against the hatching of eggs, mortality of nymphs and adults and fecundity of mealy bugs under *in vitro* conditions. The results revealed that with the increase in concentration of plant extracts, there was a corresponding decrease in nymph and adult mortality and fecundity. Hatching of eggs was minimum at 100 % concentration in *E. globulus* (20 %) followed by *O. sanctum* (30.42 %) and *P. betle* (36.06 %) over control (96.73 %). The growth and development of nymphs and adults were adversely affected after the treatments. The duration of nymphal stage was reduced by 2-10 days in *E. globulus*, 1-7 days in *O. sanctum* and 1-2 days in *P. betle* at higher concentrations. However, at lower concentrations it was prolonged by 2-4 days in all the three extracts. At lower concentrations, the mortality of adults was on par with that of the control. Similarly, the adult duration was also reduced by 3-4 days at 100 percent concentration and prolonged by 5-6 days at lower concentrations in all the extracts. The leaf extract of *E. globulus* was found to be most effective followed by *O. sanctum* and *P. betle* against mealy bugs. (Govindaiah *et al.*, 2006 b)

2) Bihar hairy caterpillar:

Srivastava *et al.*, (2003) have tested several neem-based formulations against *Spodoptera litura* (Fab) and *Spilarctia obliqua* (Walker) in mulberry and have also observed the reaction of *B. mori* to these preparations through bioassay and chronic feeding experiments. It is concluded that silkworm is more sensitive than the two polyphagous insect pests. Neem formulations are able to affect the growth and development of *B. mori* at a much lower concentration than those deterring feeding. It resulted in extended larval period and heavy mortality before pupation. Laboratory evaluation of custard apple (*Annona squamosa*) formulations was found to be very effective against Bihar hairy caterpillar (*Spilosoma obliqua*). Annona oil based formulations were proved to be best antifeedants followed by Annona seed extracts and leaf based formulations. Results indicated that *Annona* extracts

have a potential to be used as insecticides for the control of mulberry pests without affecting the silkworm (Raman *et al.*, 2000).

3) Leaf webber:

Aqueous leaf extracts of *Catheranthus roseus*, *Ocimum sanctum*, *Piper betle*, *Mentha piperita* and *Tagetes patula* were also reported to have insecticidal properties. The extracts of above plants were effective at all the concentrations with maximum effect at 100 % concentration on all the stages of *Diaphania pulverulentalis* (Hampson), which causes leaf rolling in tender part of mulberry. The larval duration increased significantly in all the extracts over control with maximum increase of 4 days each in *T. patula*, *M. piperita* and *O. sanctum*. Larval mortality was maximum in *O. sanctum* (76.66 %) followed by *T. patula* (56.66 %). Pre-pupal and pupal durations also increased by 2 days in *P. betle* and *T. patula*. Maximum pupal mortality was observed in *O. sanctum* (84.50 %) followed by *T. patula* (82.18 %) and *P. betle* (80.35 %). Longevity of moths was reduced in all the extracts with maximum in *P. betle* (4 days) followed by *M. piperita* and *C. roseus* (2 days each). Adult mortality was very high in *T. patula* (96.63 %) and *P. betle* (70.39 %). Among all the five extracts tested, *T. patula* followed by *O. sanctum* and *P. betle* were found to be very effective and promising to control leaf roller pest. (Govindaiah *et al.*, 2006a).

4) Spiraling white fly:

A few studies are also available on the effect of plant extracts and products on spiraling white fly, *Aleurodicus disperses* and *Dialeuropora decempuncta* in mulberry. (Bandopadhyay *et al.*, 2005). Mariam and Chandramohan (2000) have observed that neem oil, neem seed kernel extract and neem oil+ pongamia oil are effective against spiraling whitefly eggs and nymphs. Extracts of *Ocimum bacilicum* and *Coleus aromaticus* at 2 and 4 percent concentrations caused significantly maximum nymphal and adult mortality. (Jagadish *et al.*, 2001).

Effect of botanicals on mulberry diseases:

Plant extracts have also attracted considerable attention of plant pathologists to develop non-toxic management methods for major diseases (Mahadevan, 1982; Wilson *et al.*, (1997), Grayer and Harborne, (1994). Some such studies are made on mulberry diseases too.

FOLIAR DISEASES

1) Leaf spot and leaf rust:

Siddaramaiah and Hegde (1990) have studied the effect of extracts of *Allium sativum* and pepper on *Cercospora moricola* causing leaf spot in mulberry and found that the extract of the former is effective against the fungus. Antifungal activity of leaf extracts of *Azadirachta indica*, *Calotropis gigantea*, *Catheranthus roseus*, *Eucalyptus* sp., *Parthenium hysterophorus*, *Eupatorium odoratum*, *Celosia argentea*, *Ocimum canum*, *Pimento officinalis*, *Pongamia pinnata* *Zingiber officinale* etc., was tested against *Cerotelium fici* and *Cercospora moricola*. (Sarvamangala *et al.*, 1993; Biswas *et al.*, 1995., Gupta 2000). *A. indica* showed maximum inhibitory effect against the germination of *Cerotelium fici* spores. It has inhibited the spore germination of *C. fici* by 91.2 %. *Eucalyptus* and *C. gigantea* extracts have inhibited the conidial germination of *C. moricola* by 91.5 % and 91.3 % respectively.

Maji *et al.*, (2005) have reported that extracts of *Allium sativum* and *Datura metel* were effective to completely inhibit the urediniospore germination of *Peridiopsisora mori* causing rust in mulberry. *Calotropis gigantea*, *Tagetes patula*, *Azadirachta indica*, *Mirabilis jalapa* and *Chromolaena odoratum* have also inhibited the germination of the uredospore by more than 90%.

Table 1. List of plants identified as most effective against major pests and diseases of mulberry.**Tableau 1. Liste des plantes identifiées comme les plus efficaces contre les principaux parasites et maladies du mûrier.**

Sl. No	Disease	Name of pests/ pathogens	Extracts of plants identified as most effective
No. de Maladie série		Nom des parasites / pathogènes	Extraits de plantes identifiés comme les plus efficaces
Mulberry pests / Parasites du mûrier			
1.	Tukra	<i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Green)	<i>Azadirachta indica</i> Juss., <i>Adhatoda vasica</i> Nees, <i>Pongamia pinnata</i> L. <i>Eucalyptus globules</i> Labill
2.	Bihar Hairy Caterpillar <i>Chenille poilue du Bihar</i>	<i>Spilarctia obliqua</i> (Walker)/ <i>Spilosoma obliqua</i>	<i>Annona squamosa</i> L.
3.	Cutworm <i>Noctuelle</i>	<i>Spodoptera litura</i> (F.)	<i>Cannabis sativa</i> L.
4.	Leaf roller <i>Enrouleur de la feuille</i>	<i>Diaphania pulverulentalis</i> (Hampson)	<i>Tagetes patula</i> L., <i>Ocimum sanctum</i> L., <i>Piper betle</i> L.
	Spiraling white fly <i>Mouche blanche à spirales</i>	<i>Aleurodicus dispersus</i> (Russel)	Neem seed kernel/neem oil <i>Graine de margousier / huile de margousier</i>
Mulberry diseases / Maladies du mûrier			
1.	Leaf spot <i>Tache de la feuille</i>	<i>Cercospora moricola</i> (Cooke.)	<i>Allium sativum</i> L., <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Calotropis gigantea</i> (L.)R.Br.
		<i>Myrothecium roridum</i> Tode. Ex.Fr.	<i>Allium sativum</i> , <i>Eucalyptus citriodora</i> Hk.f
		<i>Pseudocercospora mori</i> (Hara) Deighton	<i>Allium sativum</i> , <i>Datura metel</i> L. <i>D. fastuosa</i> L.
		<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	<i>Calotropis gigantea</i> , <i>Azadirachta indica</i>
2.	Leaf rust <i>Rouille de la feuille</i>	<i>Cerotelium fici</i> Cast.(Arth.)/ <i>Peridiopsis mori</i>	<i>Azadirachta indica</i> , <i>Allium sativum</i> , <i>Datura metel</i> , <i>D. fastuosa</i>

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

3.	Powdery mildew <i>Mildiou poudreux</i>	<i>Phyllactinia corylea</i> (Pers.) Karst.	<i>Catheranthus roseus</i> (L.) G. Don, <i>Murraya koenigi</i> L. (Spreng.), <i>Azadirachta indica</i> , <i>Allium sativum</i>
4.	Leaf blight <i>Flétrissure de la feuille</i>	<i>Fusarium pallidorozeum</i> (Cooke)Sacc. / <i>F. moniliforme</i> Sheldon	<i>Pongamia pinnata</i> L.(Pierre)
5.	Bacterial blight <i>Flétrissure bactérienne</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> (Boyer and Lambert)/ <i>Xanthomonas campestris</i> (Pommel)	Neem derivatives / <i>Dérivés de margousier</i>
6.	Root knot <i>Galle des racines</i>	<i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid & White)	<i>Carica papaya</i> L. <i>Euphorbia synadenium</i> L. <i>Azadirachta indica</i> <i>Calotropis gigantea</i>

Leaf spot caused by *Myrothecium roridum* sometimes becomes epidemic in certain areas and cause leaf yield loss and quality. Ethanolic leaf extracts of *Allium sativum* and *Eucalyptus citriodora* were reported to be effective in inhibiting the growth of *Myrothecium roridum* *in vitro*. In the liquid media amended with *Eucalyptus* extract (0.4mg/ml¹) complete inhibition of sporulation was noticed up to 8 days, while, complete inhibition of mycelial growth for 6-14 days was recorded with 0.1mg/ml¹ commercial eucalyptus oil. Different doses of *Eucalyptus* and *Allium* extracts significantly reduced the disease severity in potted mulberry also. It seems, the toxic principle of *E. citriodora* to *M. roridum* is fungistatic in nature and may have essential oil based origin. (Chattopadhyay *et al.*, 2002; 2003). Maji *et al.*, (2005,2007) have observed highest inhibition of *M. roridum* colony growth in 10% extract of *Eucalyptus citriodora* (49.45%) followed by that of *Datura metel* (39.45%), *Chromolaena odoratum* (25.56%) and *Allium sativum* (25.%). 0.5 % extracts of *Allium sativum* and *Datura fastuosa* were reported to be effective in completely inhibiting the conidial germination of *Pseudocercospora mori*. Extracts of *Adhatoda zeylanica*, *Calotropis gigantea*, *Andrographis paniculata* and *Holarrhena antidysentrica* were also capable of inhibiting the conidial germination by about 80% (Maji *et al*, 2000).

2) Powdery mildew:

Most of the studies on the effect of plant extracts on mulberry diseases were carried out on powdery mildew caused by *Phyllactinia corylea*. Extracts of *Adhatoda zeylanica*, *Azadirachta indica*, *Lannea coromandelica*, *Oxalis corniculata*, *Celosia argentea* and *Chromolaena odoratum* were reported to be effective in reducing the incidence of powdery mildew. (Biswas *et al.*, 1995)

Datta *et al.*, (1997) have found that the ethanolic extract of the funicles of *Acacia auriculiformis* Cunn. is highly effective at a dose of 160 mg/plant in reducing powdery mildew. The water extract when sprayed on leaves has also increased the protein content of mulberry leaves. No toxic residue on leaves was traced 15 days after treatment.

Composted extract of *Catheranthus roseus* is reported to be effective in reducing the incidence of powdery mildew by 69.48 %, while that of *Murraya koenigii* reduced the incidence by 64.43% (Pratheesh Kumar *et al.*, 2000). Extracts of *Coriandrum sativum*, *Anethum graveolance*, *Feronia elephantum*, *Citrus aceda*, *Datura stramonium* and *Azadirachta indica* were also reported to be effective at various levels in inhibiting the conidial germination of *Phyllactinia corylea* (Prasad *et al.*, 2001). Gangwar *et al.*, (2000) have reported that *Tagetes patula*, *Allium sativum*, *Azadirachta indica*, *Datura fastuosa*, *Adhatoda zeylanica*, *Chromolaena odoratum*, *Zingiber officinale*, *Mirabilis jalapa*, *Cassia tora* and *Calotropis gigantea* inhibited the conidial germination of *P. corylea* by more than 70%. Under *in vivo* test, *A. indica* was most effective and at par with 0.2% wettable sulphur. All concentrations of garlic bulb extract, neem and parthenium leaf extracts were found to have inhibitory effect on conidial germination of *Phyllactinia corylea*. Foliar spray with neem, Parthenium and garlic extracts on mulberry leaves significantly reduced the disease severity (PDI) from 50 to 5.8, 51 to 7.4 and 52 to 0.6 percent, respectively. There was also an improvement in chlorophyll, protein and polyphenol contents of infected leaves sprayed with plant extracts. Garlic extracts showed maximum effect in disease control followed by neem and parthenium. (Vidyasagar and Rajasab, 2001). It is known that garlic contains sulfur compounds such as ajoene or allicin, which might have acted like antifungal chemicals. 5% ethanolic extracts of *Cassia tora* and *Cassia sophera* were also found to be effective in completely suppressing the conidial germination of *P. corylea*. Other effective plant extracts inhibiting conidial germination by more than 90% were *Allium sativum*, *Ocimum sanctum* and *Moringa oleifera* (Maji *et al.*, 2005,2006).

3) Leaf blights:

Leaf blight is caused by a number of fungi in mulberry, of which the one caused by species of *Fusarium* and *Alternaria* are more damaging. Gupta *et al.*, 1996 have tested leaf extracts of *Azadirachta indica*, *Calotropis gigantea*, *Eucalyptus* Sp., *Parthenium hysterophorus* and *Pongamia pinnata* for their antifungal activity against *Fusarium pallidoroseum* and *F. moniliforme* var. *intermedium* causing leaf blights and *F. oxysporum* causing leaf spot disease in mulberry. Aqueous extract of *P. pinnata* at 1:5 concentration was highly fungitoxic to *F. pallidoroseum* and *F. moniliforme* var. *intermedium* inhibiting their mycelial growth in plates by 78.2 and 84.3% respectively. Under greenhouse conditions, aqueous leaf extract (25 %) of *P. pinnata* reduced the incidence of *Fusarium* leaf blights by 63.6 and 67.1 percent respectively, whereas in case of leaf spot caused by *F. oxysporum*, *C. gigantea* and *A. indica* were very effective. Leaf extract of neem is reported to be effective on *Alternaria alternata* (Raju, 1998)

4) Bacterial diseases:

Botanicals and their products are also known to have bactericidal effect. Baqual *et al.*, (2000) have observed that neem derivatives are effective in controlling *Pseudomonas syringae* Pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* Pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. *Piper nigrum* and *Allium sativum* extracts were also reported to be effective against *Pseudomonas* and *Xanthomonas* (Sharma *et al.*, 2001).

SOIL BORNE DISEASES

Root knot caused by *Meloidogyne incognita* is a major problem in all mulberry-growing areas with sandy soil and irrigation facilities. Few reports are available on the effect of botanicals in the control of root knot disease. Effect of different plant extracts on hatching and mortality of the nematode was studied by Philip *et al.*, (1993). They have found that the leaf extracts of *Carica papaya*, *Euphorbia synadenium*, *Calotropis gigantea* and *Sesamum indicum* at 1:10 concentration have completely suppressed the hatching of nematode eggs. *Carica papaya* and *E. synadenium* extract have also given 100 % and 96 % larval mortality of the nematode respectively. Datta *et al.*, (1997)

have found that the ethanolic extract of the funicles of *Acacia auriculiformis*. Cunn, is highly effective at a dose of 160 mg/plant in reducing the root-knot disease of mulberry.

Suppression of hatching of nematode eggs and mortality of young juveniles has also been accomplished with the help of extracts of seed kernel powders of neem and *Pongamia* at 100% concentration. (Govindaiah *et al.*, 2003). Vijayakumari *et al.*, (2004) have also reported the efficacy of extracts of neem leaf and *Calotropis gigantea* in suppressing the hatching of eggs.

Incidence of root knot is severe in soils infested with mulberry root rot pathogens, *Fusarium solani* and *F. oxysporum*. Interactions between *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia bataticola* cause disease complex in mulberry, as *M. incognita* provides a good site for easy entry of developing hyphae of fungal pathogens into the roots of mulberry (Bhagyrathy *et al.*, 2000; Sukumar *et al.*, 2000). Nishitha and Sharma, 2005 and Nishitha *et al.*, 2007 have studied the effect of plant extracts on root rot-root knot disease complex in mulberry and found that extracts of *Allium sativum* and *Lawsonia inermis* at 20% concentration are effective in inhibiting the radial growth of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* *in vitro* as well as inhibiting the hatching of nematode eggs. Efforts have also been made to identify plants effective against mulberry root rot pathogens. Chowdary and Sharma (2005) have observed that the application of *Glyricidia maculata* @100g /plant along with the biocontrol agent *Trichoderma* and neem oil cake was effective to control root rot disease by about 88%.

FUTURE LINES OF RESEARCH

During the last 1 or 2 decades, scientists world over have been giving a lot of importance to develop ecofriendly strategies to manage pest and diseases of agricultural and economically important crops. Though chemical control is more effective, the hazardous effects of chemicals on non-target organisms have forced scientists to think about alternate methods to manage pests and diseases. The answer invariably lies in plants. From the studies conducted so far on a variety of crops, it was proved beyond doubt that a number of plants, some of which otherwise act as obnoxious weeds, holds great promise as future source of ecofriendly plant protection method. In mulberry, among the plants tested so far, *Allium sativum*, *Azadirachta indica*, *Calotropis gigantea*, *Pongamia pinnata* and few other plants seem to be extremely beneficial as they have been found effective on a number of pests and diseases. It is essential to study the active and the common ingredient if any, in these plants that will help to develop a common plant based management strategy for major pests and diseases of mulberry. Further, a lot more remaining plants too needs to be evaluated for their beneficial effects on various pests and pathogens. Developing one or two common plant based pesticide/ fungicide will in turn help to avoid the use of different deleterious chemicals for various insect pests and pathogens. Future line of research in these aspects is necessary to develop a common cheap and ecofriendly plant based control measure against pests and diseases of mulberry, which will go a long way in enhancing the cocoon production.

REFERENCES

- BABU R.S., DORCUS D. & VIVEKANANDAN, M. (1994) Possible control of tukra disease in mulberry using aqueous plant extracts of natural pesticide origin. Journal of Sericultural Science of Japan, 63(3): 175- 182
- BHASKARAN V & P. NARAYANASWAMY (1995) Traditional pest control. Caterpillar Publications, Mariyappa Nagar, Tamil Nadu, India
- BANDOPADHYAY U. K., SANTHAKUMAR, M. V. & SARATCHANDRA B. (2005) Role of insecticides and botanicals in controlling white fly (*Dialeuropora decempuncta*) Quaintance and Baker and their influence on some economic traits of silkworm (*Bombyx mori* L.). Annals of Plant Protection Sciences, 13: 1., 48-53

- BAQUAL M.F., SHARMA D.D., GUPTA V.P. & CHANDRASHEKAR D.S. (2000) Efficacy of biocontrol agents and plant products against *Pseudomonas syringae* Pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* Pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. *Sericologia*, 40(3): 479-485
- BHAGYRATHY, N., SIDDAPPAJI, C., SHANKAR, M.A., CHINNASWAMY, K.P. & CHAVAN, S. (2000) Interaction of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* and fungus *Rhizoctonia bataticola* on mulberry plants. In: *Moriculture in Tropics*. (Eds.), K. P. Chinnaswamy *et al.*, Univ. Agric. Sci., GKVK, Bangalore, India, pp152-153
- BISWAS S., DAS N.K., QADRI S.M.H. & SARATCHANDRA, B. (1995) Evaluating different plant extracts against three major diseases of mulberry. *Indian Phytopathology*, 48(3): 342-346,
- CARLINI C.R. & GROSSIDES M.F. (2002) Plant Toxic Proteins with Insecticidal Properties - A Review on Their Potentialities as Bioinsecticides. *Toxicon*, 40(11):1515-1539
- CHATTOPADHYAY S., MAJI M.D. PRATHEESH KUMAR., DAS K.K. & SARATCHANDRA, B. (2002) Response of mulberry brown leaf spot fungus *Myrothecium roridum* to different plant extracts. *International Journal of Industrial Entomology*, 5(2): 183-188.
- CHATTOPADHYAY S., MAJI M.D. & PRATHEESH KUMAR, P.M. (2003) Sensitivity of mulberry brown leaf spot pathogen, *Myrothecium roridum* to different plant extracts. In: Abstracts of National Conference on Tropical Sericulture for Global Competitiveness, 5-7th November, 2003, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India. p.53
- CHOWDARY N.B. & D.D. SHARMA (2005) Management of root rot disease through biocontrol agents and botanicals. In: *Annual Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Sreerampuram, Mysore. (2005-06)* P. 40
- DATTA S.C., SINHABABU S.P. & SUKUL N.C. (1997) Improved growth of silkworm from effective treatment of mulberry diseases by *Acacia auriculiformis* extracts. *Sericologia*, 37(4): 707-712
- FOWCETT C.H. & SPENSER D.M. (1970) Plant chemotherapy with natural products- A review. *Phytopathol.*, 8:403-418.
- GANGWAR S.K., QADRI S.M.H., MAJI M.D., PRATHEESH KUMAR P.M. & SARATCHANDRA B. (2000) Evaluation of fresh plant extracts for the control of the mulberry powdery mildew. *Indian Journal of Sericulture*, 39(1):76-78,
- GOVINDAIAH., GAYATHRI M.C. & NAGAVENI, V. (2006a) Effect of medicinal plant extracts on growth and development of leaf roller *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) infesting mulberry. In: Abstracts of National Conference on "New Strategies in Research and Development of Sericulture - Indian Perspective" Department of Sericulture, Jnanabharathi Campus, Bangalore University, Bangalore, India, 9th-10th March, P.12.
- GOVINDAIAH., GAYATHRI M.C. & NAGAVENI V. (2006b) Effect of certain medicinal plant extracts in the control of mulberry mealy bugs. In: Abstracts of National Seminar on Soil Health and Water Management for Sustainable Sericulture, Regional Sericultural Research Station, Kodathi, Bangalore, India, 27-28 September, p.100-101.
- GOVINDAIAH., SHARMA D.D., MUKHERJEE S. & CHOWDARY N.B. (2003) Efficacy of different seed kernels against root knot nematode *Meloidogyne incognita* in mulberry. *Internatl. J. Indust. Entomol.* 6(2): 133- 38
- GRAINAGE M & AHMED S. (1988) *Handbook of Plants with Pest Control Properties*. John Wiley and Sons, New York.
- GRAYER R.J. & HARBORNE J.B. (1994) A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*, 37: 19-42.
- GUPTA, V.P., GOVINDAIAH. & DATTA R.K. (1996) Plant extracts: A non-chemical approach to control *Fusarium* disease of mulberry. *Cur. Sci.*, 71(5): 406-407
- GUPTA, V. P. (2000) Biological control of mulberry diseases- The current status. In: *diseases of plantation crops, Spices, Betelvine and Mulberry*, M. K. Dasgupta (Ed.) Visva-Bharathi Pub., Sriniketan, India, pp145-148.
- JAGADISH K.S., NARAYANASWAMY K.C., NAIKA R., MANJUNATHA GOWDA. & SHIVAKUMAR H.R. (2001) Bio-efficacy of certain plant based insecticides against spiralling

- whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russel infesting mulberry. In: Abstracts of Natl. Sem. on Mulberry Sericulture Research in India, KSSRDI, Thalaghattapura, Bangalore, India, 26-28 November, p.194-195
- JESPERS A.B.K & WARD M.A. de (1993) Natural products in Plant Protection. Netherland J. Pl. Pathol; 99 (supl. 3) 109-117.
- MAHADEVAN A. (1982) Biochemical aspects of plant disease resistance. Today and Tomorrows Printers and Publishers, New Delhi, India pp381.
- MAJI M.D., PRATHEESH KUMAR P.M. & SEN S.K.(2000) *In vitro* evaluation of some plant extracts against *Pseudocercospora mori* - A leaf spot causing pathogen. In: National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development, Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, India, 16-18, November, p.48.
- MAJI M.D., CHATTOPADHYAY S., PRATHEESH KUMAR P. M. AND SARATCHANDRA B. (2005) *In vitro* screening of some plant extracts against fungal pathogens of mulberry (*Morus* spp.) Archives of Phytopathology and Plant Protection. 38(3), 157-164
- MAJI M.D., BANERJEE R., CHATTOPADHYAY S., SAHA A.B., GHOSH P.K & GHOSH P.L. (2006) Eco-friendly management of major foliar diseases of mulberry through botanicals and bio-control agent. In: Proceedings of Regional Seminar on "Prospects and Problems of Sericulture an Economic Enterprise in North West India", 11th-12th November 2006, Regional Sericultural Research Station, Dehradun, India. P.74-80.
- MAJI M.D., S. CHATTOPADHYAY., P.M PRATHEESH KUMAR AND B. SARATCHANDRA (2007) Evaluation of some ethnobotanical plant extracts for fungotoxicity against *Myrothecium roridum*. Int. J. Indust. Entomol. 14(2) 75-80
- MARIAM M.A.& CHANDRAMOHAN N. (2000) Evaluation of chemical insecticides and botanicals against various stages of spiraling whitefly, (*Aleurodicus dispersus* Russell) on mulberry. The Madras Agricultural Journal, 87(7-9): 379-381.
- NARENDRA KUMAR J.B., VEERAAIAH T.M.& JAYARAJ S.(2006) Tukra mealy bug (*Maconellicoccus hirsutus* green) of mulberry (*Morus alba* L.) - tackling through eco - friendly strategies for sustainable sericulture. In: Abstracts of Natl. Sem. on Soil Health and Water Management for Sustainable Sericulture, Regional Sericultural Research Station, Kodathi, Bangalore, India, 27-28 September, P.127
- NISHITHA NAIK V. & SHARMA D.D. (2005) Efficacy of plant extracts, oil cakes and bioagents against pathogens causing disease complex in mulberry (*Morus* spp.).In: Proceedings of Promotion of Biopesticide and Biofertilizers in Agriculture, National Institute of Rural Development, Hyderabad, India. p.125-132.
- NISHITHA NAIK V., D. D. SHARMA., GOVINDAIAH., N. B. CHOWDARY & V. R. MALA (2007) Screening of botanicals against root knot disease complex in mulberry (*Morus indica* L.) Int.J.Indust. Entomol. 14 (1) 57-61.
- PAN S AND G. DEB (1997) *In vitro* bioassay of some plant products against some fungal pathogens. Indian Agric., 41,277-285
- PHILIP T., GOVINDAIAH., A. K. BAJPAI & R. K. DATTA (1993) Effect of certain leaf extracts on hatching and mortality of the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*, infesting mulberry. Indian J. Seric., 32(1) 37-41.
- PRASAD K.V., SUKUMAR J., PADMA S.D.& BONGALE U.D. (2001) Inhibitory effect of some angiospermic plant extracts on conidial germination of *Phyllactinia corylea*, the causal organism of powdery mildew disease in mulberry. In: Abstracts of Natl. Sem. on Mulberry Sericulture Research in India, KSSRDI, Thalaghattapura, Bangalore, India, 26-28 November, p.119-120.
- PRATHEESH KUMAR P.M., QADRI S.M.H., MAJI M.D., GANGWAR, S.K & SARATCHANDRA B. (2000) Biological control of *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst, using composted plant extracts. Indian J. Seric. 39(1):81-83
- RAJU,H.V (1998) Investigations on fungal leaf blight disease of mulberry (*Morus alba*. L) Ph.D Thesis, Univ. of Mysore, Mysore, India, p252.
- RAMAN G.V., RAO M.S., SRIMANNARAYANA G & B.VENKATESWARLU (2000) Bio efficacy of custard apple (*Annona squamosa*) formulations against mulberry pest , Bihar hairy

- caterpillar (*Spilosoma obliqua* Walker) and mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) *Sericologia* 40(2) 267-273.
- SARVAMANGALA H.S., GOVINDAIAH. & DATTA R.K.(1993) Evaluation of plant extracts for the control of fungal diseases of mulberry. *Indian Phytopathol.* 46(4): 398-401,
- SHARMA D.D., GUPTA V.P., BAQUAL M.F. & CHANDRASHEKAR D.S.(2001) Efficacy of plant extracts against *Pseudomonas syringae* pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. *Indian J. Seric.* 40(1):109-111,
- SHIRATA A. (1982) Antifungal activity of bark pieces of mulberry shoot and factors causing its change. *Annals of the Phytopathological Society of Japan.* 48(2): 147-152.(Japanese)
- SHIRATA A & TAKAHASHI K. (1982a) Antifungal activity of the tissues of mulberry and arboreal plants. *Annals of the phytopathological society of Japan*, 48(2):141-146,(Japanese)
- SHIRATA A.& TAKAHASHI K.(1982b) Production of antifungal substances in the root of mulberry. *Bulletin of Sericultural Experiment Station*, 28(5):691-706,(Japanese)
- SIDDARAMAIAH A.L & R.K.HEGDE (1990) Effect of plant extracts on *Cercospora moricola*: A leaf spot causing pathogen on mulberry. *Mys.J. Agric. Sci.*, 24: 208- 213
- SRIVASTAVA R.P., MISHRA S.K., SANJAY KUMAR.& SHARMA N.B.(2003) Use of neem formulations in mulberry sericulture. In: Abstracts of Natl. Sem. on Sustainable Sericulture India, 1-2 February, Department of Applied Animal Sciences, Babasaheb Bhimrao Ambedkar University, Lucknow, India., p.26-27.
- SUKUMAR, J., PADMA, S.D., PRASAD, K.V & BONGALE,U.D (2000) Studies on some aspects of black root rot disease in mulberry by *Lasiodiplodia theobromae*. In: *Moriculture in Tropics.* (Eds.) ,K. P. Chinnaswamy *et al.*, Univ.agric.Sci.,GKVK,Bangalore,India,pp121-123.
- SURESH BABU V (2005). Present status and concepts of biofertilizers and biopesticides in India: in Workshop on promotion of biopesticides and biofertilizers in Agriculture. Sept.20-22 Natl. Institute of Rural Development, Ministry of Rural Development, Govt. of India, Hyderabad , p.1-12
- VENUGOPAL A., HARIHARA RAJU, A & S.JAYARAJ (2004) Efficacy of botanicals on tukra mealy bug in mulberry- an ecofriendly approach under IPM (In: Progress of research on disease and pest management in sericulture. (Eds.) R. Govinda, R. Naika and B. Sannappa p.74-77.Seri Scientific Publishers, Bangalore
- VIDYASAGAR G.M.& RAJASAB A.H.(2001) Effect of neem (*Azadirachta indica*), parthenium (*Parthenium hysterophorus*) and garlic (*Allium sativum*) extracts on the incidence of powdery mildew of mulberry caused by *Phyllactinia corylea*. *Indian J. Seric.*, 40(1):81-85
- VIJAYAKUMARIN., P. SUJATHAMMA & P. MURALI MOHAN (2004) Effect of plant products on hatching of the root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting mulberry (In: Progress of research on disease and pest management in sericulture. (Eds.) R. Govinda, R. Naika and B. Sannappa p.36-37.Seri Scientific Publishers, Bangalore
- VIROJ K., THAWEE K., PRASERT P., SMAN K& RUNGSI C.(1995) Effect of antimicrobial substances extracted from native mulberry plants on some plant pathogenic fungi. Bangkok (Thailand). p.39-53. (Thai)
- WILSON C.L., SOLAR J.M., GHAOUTH A. EL & WISNIEWSKI, M.E (1997) Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant disease.* 81(2): 204-210.

REVUE SUR LE ROLE DES SUBSTANCES BOTANIQUES DANS LA LUTTE CONTRE LES PARASITES ET LES MALADIES DU MURIER

TOMY PHILIP*, MALA V. RAJAN & C. K. KAMBLE

Central Sericultural Research & Training Institute, Sreerampuram, Mysore 578 008, Inde.

Les insectes parasites et les pathogènes des plantes représentent un défi pour chaque culture et la tentation est grande de les éliminer avec des pesticides et des fongicides chimiques puissants. Les pesticides chimiques pourraient détruire rapidement les ravageurs à court terme, mais ils pourraient aussi tuer les organismes bénéfiques, ce qui perturberait l'écosystème naturel à long terme. Une approche biologique pour lutter contre les parasites et les maladies du mûrier est plus sûre, meilleur marché et plus efficace. On utilise les substances botaniques ou les préparations à base de plantes depuis des siècles en médecine et pour lutter contre les parasites. L'utilisation de feuille de margousier et d'ail est pratiquée par les fermiers en Inde depuis des temps immémoriaux. On sait que les vaporisations à partir d'extraits aqueux d'ail ont des propriétés antibiotiques et antifongiques et qu'elles suppriment un certain nombre de maladies des plantes chez des cultures variées. Les produits à base de plantes se décomposent facilement quand ils sont exposés à la lumière, à la chaleur ou à l'eau, ils sont donc moins susceptibles de contaminer le sol ou l'eau souterraine. Un certain nombre de plantes couramment disponibles qu'on connaît pour leurs propriétés insecticides et antifongiques ont aussi été essayées chez le mûrier pour mettre au point des stratégies de lutte contre les parasites et les maladies non nuisibles à l'environnement. Cette revue essaie de présenter les études disponibles sur le sujet.

INTRODUCTION

Pour répondre aux besoins en nourriture de la population mondiale en expansion, on a besoin de nouvelles manières de protéger les cultures contre les prédateurs et les pathogènes, tout en évitant l'utilisation de produits chimiques agressifs pour l'environnement. Pendant des siècles, les dérivés des plantes ont été utilisés dans l'agriculture, la médecine, les cosmétiques, la production de bétail, les articles de toilette, etc. Bien que les produits chimiques soient efficaces pour supprimer les attaques par les parasites et les maladies sur un ensemble de cultures, on s'inquiète de la toxicité résiduelle des produits chimiques. L'utilisation constante de substances chimiques et de pesticides toxiques pour les champignons contribue à l'empoisonnement de la chaîne alimentaire, à la pollution environnementale, tout en augmentant la chaîne de développement de la résistance. Les problèmes de santé environnementale et publique importants qu'entraîne l'utilisation excessive de pesticides chimiques ont conduit à la recherche de produits alternatifs que l'on appelle les biopesticides (Suresh Babu, 2005). On sait que les extraits de feuilles de nombreuses plantes médicinales ont un effet néfaste sur de nombreux parasites agricoles et d'organismes qui provoquent des maladies (Shirata, 1982 ; Shirata et Takahashi, 1982a, 1982b ; Viroj et coll., 1995 ; Carlini et Grossidesa, 2002). On a rapporté que près de 2400 espèces de plantes en Inde possèdent des propriétés insecticides (Bhaskaran et Narayanaswamy, 1995). On accorde de l'attention à l'utilisation d'extraits de plante et aux produits à base de plantes en raison de leur spécificité prouvée, de leur biodégradabilité, de leur faible toxicité

* Auteur à qui adresser la correspondance : Central Sericultural Research and Training Institute, Sreerampuram, Mysore 570 008, Inde. Tel : + 91 -0821 – 2362406. Email : tomphil@rediffmail.com

et de leur toxicité résiduelle minimum pour l'écosystème (Fowcett et Spenser, 1970 ; Grainage et Ahmed, 1988 ; Jespers et Ward, 1993 ; Pan et Deb, 1997). De nombreuses recherches ont aussi été réalisées sur l'effet des extraits de plantes sur les parasites et les maladies du mûrier qui sont passées en revue dans cet article.

PARASITES DU MURIER

Une quantité considérable de recherches ont été réalisées sur l'effet de plantes variées et de leurs extraits sur les parasites du mûrier surtout sur *Maconellicoccus hirsutus*, *Spodoptera litura*, *Spilarctia obliqua* et *Diaphania pulverulentalis*.

1) La cochenille (*Maconellicoccus hirsutus*) ;

Maconellicoccus hirsutus, connu populairement sous le nom de cochenille est un parasite difficile à tuer, qui provoque la maladie du tukra chez le mûrier. Le parasite provoque le retardement de la croissance dans la zone apicale du plant de mûrier, ce qui a un effet très néfaste sur la croissance et la production de feuilles et à son tour sur l'élevage des jeunes vers à soie. On a testé l'effet de plantes variées contre le parasite pour mettre au point des stratégies de lutte écologiques. Babu et coll., (1994) ont étudié l'effet d'extraits aqueux de feuille d'*Azadirachta indica*, de *Rhizophora apiculata*, d'*Adhatoda vasica*, de *Parthenium hysterophorus*, de *Lantana camara* et de *Prosopis juliflora* sur le tukra chez les variétés de mûrier M-5, S-13, MR-2, Kosen, BC2-59 et de Tr-4. Ils ont constaté que la vaporisation d'extraits évite la diffusion supplémentaire de la maladie chez toutes les variétés de mûrier étudiées. Parmi les plantes, les extraits aqueux d'*Azadirachta indica* et d'*Adhatoda vasica* sont les plus efficaces. La vaporisation foliaire d'extraits n'a pas d'influence sur l'état nutritionnel et sur la teneur en eau des feuilles atteintes par le « tukra » et, en fait, tous les facteurs morin, les attractifs olfactifs, les facteurs de morsure et de mastication s'avèrent intacts. Il n'y a pas d'effet négatif quand on alimente les vers à soie avec les feuilles vaporisées avec les extraits aqueux.

Les extraits de noyau de margousier et de *Pongamia pinnata* s'avèrent également efficaces pour lutter contre le tukra chez le mûrier. Les extraits de noyau de margousier et de pongamia baissent l'incidence, qui est de 30,9 % chez le témoin, à respectivement 3,85 % et 5,35 %. Les noyaux s'avèrent plus efficaces que l'huile des graines contre la cochenille (Venugopal et coll., 2004 ; Narendra Kumar et coll., 2006). On a aussi signalé que l'extrait éthanolique des funicules d'*Acacia auriculiformis* est efficace à la dose 160 mg / plant contre *Maconellicoccus hirsutus* (Datta et coll., 1997).

On a évalué l'efficacité d'extraits aqueux de feuilles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Ocimum sanctum* et de *Piper betle* contre l'éclosion des œufs, la mortalité des nymphes et des adultes et la fécondité des cochenilles dans des conditions *in vitro*. Les résultats révèlent qu'avec l'augmentation de la concentration en extraits de plantes, il existe une baisse correspondante de la mortalité et de la fécondité des nymphes et des adultes. L'éclosion des œufs est minimum avec une concentration à 100 % d'*E. globulus* (20 %), suivi par *O. sanctum* (30,42 %) et *P. betle* (36,06 %) par rapport au témoin (96,73 %). La croissance et le développement des nymphes et des adultes sont négativement affectés après les traitements. La durée du stade nymphal diminue entre 2 à 10 jours avec *E. globulus*, entre 1 à 7 jours avec *O. sanctum* et de 1 à 2 jours avec *P. betle* à des concentrations plus élevées. Cependant, à des concentrations plus faibles, elle est prolongée de 2 à 4 jours avec les trois extraits. Avec des concentrations plus faibles, la mortalité des adultes est égale à celle du témoin. De même, la durée de vie des adultes diminue aussi de 3 à 4 jours avec une concentration de 100 % et elle est prolongée de 5 à 6 jours avec des concentrations plus faibles avec tous les extraits. L'extrait de feuille d'*E. globulus* s'avère le plus efficace suivi par celui d'*O. sanctum* et par celui de *P. betle* contre les cochenilles (Govindaiah et coll., 2006 b).

2) Chenille poilue du Bihar :

Srivastava et coll., (2003) ont testé plusieurs formulations à base de margousier contre *Spodoptera litura* (Fab) et *Spilarctia obliqua* (Walker) chez le mûrier et ont aussi observé la réaction de *B. mori*

à ces préparations, grâce à l'évaluation biologique et à des expériences d'alimentation chronique. On en a conclu que le ver à soie est plus sensible que les deux parasites polyphages. Les formulations de margousier sont capables d'affecter la croissance et le développement de *B. mori* à une concentration bien plus faible que celles qui dissuadent l'alimentation. Cela entraîne une augmentation de la durée larvaire et une forte mortalité avant la nymphose. L'évaluation en laboratoire de formulations d'anone (*Annona squamosa*) s'avère très efficace contre la chenille poilue du Bihar (*Spilosoma obliqua*). Les formulations à base d'huile d'anone s'avèrent être les meilleurs antiappétents suivis par les extraits de graine d'anone et des formulations à base de feuille. Les résultats indiquent que les extraits d'*Annona* présentent un potentiel pour être utilisés comme insecticides pour lutter contre les parasites du mûrier sans affecter le ver à soie (Raman et coll., 2000).

3) L'enrouleur de la feuille :

On a aussi rapporté que les extraits aqueux de feuille de *Catheranthus roseus*, d'*Ocimum sanctum*, de *Piper betle*, de *Mehnthia piperita* et de *Tagetus patula* ont des propriétés insecticides. Les extraits de ces plantes sont efficaces à toutes les concentrations avec l'effet maximum à une concentration de 100 % pendant tous les stades de *Diaphania pulverulentalis* (Hampson), qui provoque l'enroulement de la partie tendre de la feuille de mûrier. La durée larvaire augmente de manière significative avec tous les extraits par rapport au témoin avec une augmentation maximum de 4 jours avec *T. patula*, *M. piperita* et *O. sanctum*. La mortalité larvaire est maximum avec *O. sanctum* (76,66 %), suivi par *T. patula* (56,66 %). Les durées pre-nymphale et nymphales augmentent aussi de 2 jours avec *P. betle* et *T. patula*. On observe la mortalité nymphale maximum avec *O. sanctum* (84,50 %), suivi par *T. patula* (82,18 %) et *P. betle* (80,35 %). La longévité des papillons diminue avec tous les extraits et est maximum avec *P. betle* (4 jours), suivi par *M. piperita* et *C. roseus* (2 jours chacun). La mortalité adulte est très élevée avec *T. patula* (96,63 %) et *P. betle* (70,39 %). Parmi les cinq extraits testés, *T. patula* suivi par *O. sanctum* et par *P. betle* s'avèrent être efficaces et prometteurs pour lutter contre l'enrouleur de la feuille (Govindaiah et coll., 2006a).

4) Mouche blanche à spirales :

Quelques études sont aussi disponibles sur l'effet d'extraits de plantes et de produits à base de plantes sur la mouche blanche à spirales, *Aleurodicus disperses* et *Dialeuropora decempuncta* chez le mûrier (Bandopadhyay et coll., 2005). Mariam et Chandramohan (2000) ont observé que l'huile de margousier, l'extrait de noyau de margousier et l'huile de margousier + huile de pongamia sont efficaces contre les œufs et les nymphes de la mouche blanche à spirales. Les extraits d'*Ocimum bacilicum* et de *Coleus aromaticus* à des concentrations de 2 et 4 % provoquent une mortalité adulte et nymphale maximum (Jagadish et coll., 2001).

Effet des substances botaniques sur les maladies du mûrier :

Les extraits de plantes ont aussi attiré une attention considérable de la part des pathologistes des plantes pour mettre au point des méthodes de lutte non toxiques contre les principales maladies (Mahadevan, 1982 ; Wilson et coll., (1997), Grayer et Harborne (1994). De telles études ont aussi été réalisées sur les maladies du mûrier.

MALADIES FOLIAIRES

1) Tache de la feuille et rouille de la feuille :

Siddaramaiah et Hegde (1990) ont étudié l'effet d'extraits d'*Allium sativum* et du poivre sur *Cercospora moricola* qui provoque la tache de la feuille chez le mûrier et constaté que l'extrait du premier est efficace contre le champignon. L'activité antifongique des extraits de feuille d'*Azadirachta indica*, de *Calotropis gigantea*, de *Catheranthus roseus*, d'*Eucalyptus* sp., de *Parthenium hysterophorus*, d'*Eupatorium odoratum*, de *Celosia argentea*, d'*Ocimum canum*, de *Pimento officinalis*, de *Pongamia pinnata*, de *Zingiber officinale* etc., a été testée contre *Cerotelium*

fici et *Cercospora moricola*. (Sarvamangala et coll., 1993 ; Biswas et coll., 1995., Gupta, 2000). *A. indica* présente un effet inhibiteur maximum contre la germination des spores de *Cerotelium fici*. Il inhibe la germination des spores de *C. fici* de 91,2 %. Les extraits d'*Eucalyptus* et de *C. gigantea* ont inhibé la germination conidiale de *C. moricola* de respectivement 91,5 % et de 91,3 %.

Maji et coll., (2005) ont rapporté que les extraits d'*Allium sativum* et de *Datura metel* sont efficaces pour complètement inhiber la germination des urediniospores de *Peridiopsis mori*, qui provoque la rouille chez le mûrier. *Calotropis gigantea*, *Tagetes patula*, *Azadirachta indica*, *Mirabilis jalapa* et *Chromolaena odoratum* ont aussi inhibé la germination des urédospores de plus de 90 %.

La tache de la feuille provoquée par *Myrothecium roridum* devient parfois épidémique dans certaines zones et entraîne une perte de rendement et de la qualité foliaire. On a signalé que les extraits éthanoliques des feuilles d'*Allium sativum* et d'*Eucalyptus citriodora* sont efficaces pour inhiber la croissance de *Myrothecium roridum* *in vitro*. Dans des milieux liquides modifiés avec de l'extrait d'*Eucalyptus* (0,4 mg / ml⁻¹), on remarque une inhibition complète de la sporulation jusqu'à 8 jours, tandis qu'on enregistre une inhibition complète de la croissance mycéliale pendant 6 à 14 jours avec 0,1 mg / ml⁻¹ d'huile d'eucalyptus commercial. Des doses différentes d'extraits d'*Eucalyptus* et d'*Allium* diminuent significativement la sévérité de la maladie également chez le mûrier en pot. Il semble que le principe toxique d'*E. citriodora* envers *M. roridum* soit de nature fongostatique et pourrait avoir une origine à base d'huile essentielle (Chattopadhyay et coll., 2002 ; 2003). Maji et coll., (2005, 2007) ont observé une inhibition plus élevée de la croissance de la colonie de *M. roridum* avec un extrait à 10 % d'*Eucalyptus citriodora* (49,45 %), suivi par celui de *Datura metel* (39,45 %), de *Chromolaena odoratum* (25,56 %) et d'*Allium sativum* (25 %). On a signalé que les extraits à 0,5 % d'*Allium sativum* et de *Datura fastuosa* sont efficaces pour complètement inhiber la germination conidiale de *Pseudocercospora mori*. Les extraits d'*Adhatoda zeylanica*, de *Calotropis gigantea*, d'*Andrographis paniculata* et d'*Holarrhena antidysentrica* sont aussi capables d'inhiber la germination conidiale d'environ 80 % (Maji et coll., 2000).

2) Mildiou poudreux :

La plupart des études sur l'effet d'extraits de plantes sur les maladies du mûrier ont été entreprises sur le mildiou poudreux provoqué par *Phyllactinia corylea*. On a signalé que les extraits d'*Adhatoda zeylanica*, d'*Azadirachta indica*, de *Lannea coromandelica*, d'*Oxalis corniculata*, de *Celosia argentea* et de *Chromolaena odoratum* sont efficaces pour diminuer l'incidence du mildiou poudreux (Biswas et coll., 1995).

Datta et coll., (1997) ont constaté que l'extrait éthanolique des funicules d'*Acacia auriculiformis* Cunn. est très efficace à une dose de 160 mg / plant pour diminuer le mildiou poudreux. Quand on vaporise l'extrait aqueux sur les feuilles, cela augmente aussi la teneur en protéines des feuilles de mûrier. On ne trouve pas de trace de résidu toxique sur les feuilles au bout de 15 jours après le traitement.

On a signalé que l'extrait composé de *Catheranthus roseus* est efficace pour diminuer l'incidence du mildiou poudreux de 69,48 %, tandis que celui de *Murraya koenigii* diminue l'incidence de 64,43 % (Pratheesh Kumar et coll., 2000). On a aussi signalé que les extraits de *Coriandrum sativum*, d'*Anethum graveolance*, de *Feronia elephantum*, de *Citrus aceda*, de *Datura stramonium* et d'*Azadirachta indica* sont efficaces à différents niveaux pour inhiber la germination conidiale de *Phyllactinia corylea* (Prasad et coll., 2001). Gangwar et coll., (2000) ont rapporté que *Tagetes patula*, *Allium sativum*, *Azadirachta indica*, *Datura fastuosa*, *Adhatoda zeylanica*, *Chromolaena odoratum*, *Zingiber officinale*, *Mirabilis jalapa*, *Cassia tora* et *Calotropis gigantea* inhibent la germination conidiale de *P. corylea* de plus de 70 %. Avec le test *in vivo*, *A. indica* est le plus efficace et à égalité avec le soufre humide. Toutes les concentrations d'extrait de tête d'ail, d'extraits de margousier et de feuille de parthenium s'avèrent avoir un effet inhibiteur sur la germination conidiale de *Phyllactinia corylea*. La vaporisation foliaire avec des extraits de margousier, de parthenium et d'ail sur les feuilles de mûrier diminue significativement la sévérité de la maladie (PDI) respectivement de 50 à 5,8 ; de 51 à 7,4 et de 52 à 0,6 %. Il y a aussi une amélioration des teneurs en chlorophylle, en protéines et en

polyphénols des feuilles infestées vaporisées avec des extraits de plantes. Les extraits d'ail présentent un effet maximum pour lutter contre la maladie, suivis par le margousier et le parthenium (Vidyasagar et Rajasab, 2001). On sait que l'ail contient des composés de soufre tels que l'ajoène ou l'allicine, qui pourraient avoir agi comme des substances chimiques antifongiques. On a constaté que les extraits éthanoliques à 5 % de *Cassia tora* et de *Cassia sophera* s'avèrent efficaces pour supprimer complètement la germination conidiale de *P. corylea*. D'autres extraits de plantes efficaces pour inhiber la germination conidiale de plus de 90 % sont *Allium sativum*, *Ocimum sanctum* et *Moringa oleifera* (Maji et coll., 2005, 2006).

3) Flétrissures de la feuille :

La flétrissure de la feuille est provoquée par un certain nombre de champignons chez le mûrier, parmi lesquels les espèces de *Fusarium* et *Alternaria* sont les plus préjudiciables. Gupta et coll., 1996 ont testé les extraits de feuilles d'*Azadirachta indica*, de *Calotropis gigantea*, d'*Eucalyptus* sp., de *Parthenium hysterophorus* et de *Pongamia pinnata* pour leur activité antifongique contre *Fusarium pallidoroseum* et *F. moniliforme* var. *intermedium* provoquant les flétrissures de la feuille et *F. oxysporum* provoquant la maladie de la tache de la feuille chez le mûrier. L'extrait aqueux de *P. pinnata* à une concentration de 1 : 5 est très fongistatique envers *F. pallidoroseum* et envers *F. moniliforme* var. *intermedium* en inhibant leur croissance mycéliale sur plaques de respectivement 78,2 et 84,3 %. Dans des conditions sous serre, l'extrait aqueux de feuille (25 %) de *P. pinnata* diminue l'incidence des flétrissures de la feuille *Fusarium* de respectivement 63,6 et 67,1 %, tandis que dans le cas de la tache de la feuille provoquée par *F. oxysporum*, *C. gigantea* et *A. indica* sont très efficaces. On signale que l'extrait de feuille de margousier est efficace sur *Alternaria alternata* (Raju, 1998).

4) Maladies bactériennes :

On sait que les substances botaniques et leurs produits ont un effet bactéricide. Baqual et coll., (2000) ont observé que les dérivés de margousier sont efficaces pour lutter contre *Pseudomonas syringae* Pv. *mori* et *Xanthomonas campestris* Pv. *mori* qui provoquent la flétrissure bactérienne chez le mûrier. On a aussi signalé que les extraits de *Piper nigrum* et d'*Allium sativum* sont efficaces contre *Pseudomonas* et *Xanthomonas* (Sharma et coll., 2001).

MALADIES VEHICULEES PAR LE SOL

La maladie du nématode de la racine provoquée par *Meloidogyne incognita* est un problème majeur dans toutes les zones de culture du mûrier au sol sablonneux et avec des installations d'irrigation. Quelques rapports sont disponibles sur l'effet des substances botaniques pour lutter contre la maladie du nématode de la racine. Philip et coll., (1993) ont étudié l'effet des différents extraits de plantes sur l'éclosion et la mortalité du nématode. Ils ont constaté que les extraits de feuille de *Carica papaya*, d'*Euphorbia synadenium*, de *Calotropis gigantea* et de *Sesamum indicum* à une concentration de 1 : 10 ont complètement supprimé l'éclosion des œufs du nématode. Les extraits de *Carica papaya* et d'*E. synadenium* ont aussi donné une mortalité larvaire du nématode de respectivement 100 % et 96 %. Datta et coll., (1997) ont constaté que l'extrait éthanolique des funicules d'*Acacia auriculiformis* Cunn est très efficace à une dose de 160 mg / plant pour diminuer la maladie du nématode de la racine chez le mûrier.

On a aussi obtenu la suppression de l'éclosion des œufs du nématode et la mortalité des jeunes âges à l'aide d'extraits de poudre de noyaux de margousier et de *Pongamia* à une concentration de 100 % (Govindaiah et coll., 2003). Vijayakumari et coll., (2004) ont aussi rapporté l'efficacité des extraits de feuille de margousier et de *Calotropis gigantea* pour supprimer l'éclosion des œufs.

L'incidence du nématode de la racine est sévère dans les sols infestés par les pathogènes de la pourriture de la racine du mûrier, *Fusarium solani* et *F. oxysporum*. Les interactions entre *Meloidogyne incognita* et *Rhizoctonia baticola* provoquent l'ensemble de la maladie chez le mûrier, puisque *M. incognita* apporte un site convenable pour l'entrée facile des hyphes en développement

des pathogènes fongiques dans les racines du mûrier (Bhagyathy et coll., 2000 ; Sukumar et coll., 2000). Nishita et Sharma, 2005 et Nishitha et coll., 2007 ont étudié l'effet des extraits de plantes sur l'ensemble de la maladie du nématode chez le mûrier et constaté que les extraits d'*Allium sativum* et de *Lawsonia inermis* à une concentration de 20 % sont efficaces pour inhiber la croissance radiale de *Fusarium solani* et de *F. oxysporum in vitro*, ainsi que pour inhiber l'éclosion des œufs du nématode. Des efforts ont aussi été faits pour identifier des plantes efficaces contre les pathogènes de la pourriture du mûrier. Chowdary et Sharma (2005) ont observé que l'application de *Glyricidia maculata* à raison de 100 g / plant avec l'agent de lutte biologique *Trichoderma* et le tourteau de margousier est efficace pour diminuer la maladie du nématode de la racine d'environ 88 %.

FUTURES AXES DE RECHERCHE

Au cours des deux dernières décennies, les chercheurs du monde entier ont accordé beaucoup d'attention à la mise au point des stratégies écologiques pour lutter contre les parasites et les maladies des cultures agricoles, importantes sur le plan économique. Bien que la lutte chimique soit plus efficace, les effets risqués des produits chimiques sur les organismes non ciblés ont forcé les chercheurs à penser à des méthodes alternatives pour lutter contre les parasites et les maladies. La réponse se trouve invariablement chez les plantes. D'après les études réalisées jusqu'à présent chez un ensemble de cultures, il a été prouvé sans aucun doute qu'un certain nombre de plantes, dont certaines agissent autrement comme des mauvaises herbes néfastes, renferment des promesses importantes pour mettre au point des méthodes écologiques de protection par les plantes. Chez le mûrier, parmi les plantes testées jusqu'à présent, *Allium sativum*, *Azadirachta indica*, *Calotropis gigantea*, *Pongamia pinnata* et quelques autres plantes semblent être extrêmement bénéfiques, puisqu'elles s'avèrent efficaces chez un certain nombre de parasites et de maladies. Il est essentiel d'étudier les ingrédients actifs et courants, s'il y en a, chez ces plantes pour mettre au point une stratégie de lutte basée sur les plantes courantes pour les principaux parasites et maladies du mûrier. De plus, il faudrait évaluer les effets bénéfiques de beaucoup plus de plantes sur différents parasites et pathogènes. La mise au point d'un ou deux pesticides / fongicides courants à base de plantes permettra d'éviter l'utilisation de différents produits chimiques nuisibles pour différents parasites et pathogènes des insectes. La recherche doit s'orienter selon ces axes pour mettre au point des mesures de lutte courantes, bon marché et écologiques à base de plantes contre les parasites et les maladies du mûrier, ce qui contribuera fortement à augmenter la production de cocons.

MULBERRY LEAF WEBBER, *DIAPHANIA PULVERULENTALIS* (HAMPSON) (LEPIDOPTERA : PYRALIDAE) AND ITS MANAGEMENT PRACTICES IN INDIA

M. MUTHUSWAMI, K.A. MURUGESH, R. KRISHNAN & G. DEVI

Department of Sericulture, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, India.

Mulberry (Morus alba L.) is the only food plant for Bombyx mori L. and hence a major economic component in sericulture. The crop is prone to attack by more than 300 species of insect pests. Among them, the leaf webber, Diaphania pulverulentalis is an important one. The pest is distributed in all the traditional sericultural areas of Karnataka, Tamil Nadu and Andhra Pradesh. It causes an average leaf yield loss of 32 per cent with the incidence of more than 70 per cent. The pest has assumed great significance because not only it renders severe loss to the yield and quality of mulberry leaf but also serves as an alternate host for silkworm diseases like pebrine and white muscardine. Hence, it is imperative to adopt the Integrated Pest Management strategy to arrest the spread of this key pest and for sustainability of the sericulture industry.

Keywords: *Mulberry, Diaphania pulverulentalis, seasonal incidence, Tetrastichus howardi, Trichogramma chilonis and management practices.*

Abbreviations used:

CSR & TI:	Central Sericultural Research and Training Institute
KSSR & DI:	Karnataka State Sericultural Research and Training Institute
ESCAP:	Economic and Social Commission for Asia and the Pacific
EC:	Emulsifiable Concentrate

INTRODUCTION

Mulberry foliage is the sole food source for silkworm, *Bombyx mori* L. and hence a major economic component in sericulture, as the quality of leaf produced per unit area has a direct relationship with the cocoon harvest. Quality and quantity of mulberry leaf production is affected by various factors like the selection of suitable mulberry varieties, adoption of appropriate crop production techniques and management of mulberry pests and diseases.

Insects inflict serious loss to sericulture industry by attacking both silkworms and their food plants. Mulberry is prone to be attacked by various insect pests in different seasons throughout the year. Members of major insect orders which are known to be the pests of mulberry, belong to Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera, Thysanoptera, Orthoptera and Isoptera (Narayanasamy, 2005). A reasonable estimate of Central Silk Board, India revealed that insects alone are capable of causing around 20 per cent loss to silk production (Singh *et al.*, 2000).

Mulberry crop is affected by more than 300 species of insects (Kotikal, 1982; Kotikal and Devaiah, 1987; Biradar, 1989; ESCAP, 1990; Narayanaswamy *et al.*, 1996; Veeranna, 1998). However, only about 60 insects among these are of economic importance warranting strict management practices.

The leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae), is a key pest of mulberry in India. This pest occurred for the first time in 1995 in several areas of traditional

sericulture belt of Karnataka (Geetha Bai *et al.*, 1997). In recent years, mulberry leaf webber, *D. pulverulentalis*, a new invader from Karnataka to Tamil Nadu is posing a serious threat to farmers. The larva binds the apical portion by its silky secretion and devours the leaf content resulting in the scarcity of leaf for young instars. The loss in leaf yield of about 12.18 per cent in Karnataka highlighted the need of immediate prophylactic management strategies to arrest the spreads of the pest (Rajadurai *et al.*, 1999). Damage by this pest causes an estimated economic loss worth of 2.19 million dollars per annum in Tamil Nadu (Anonymous, 1999).

DISTRIBUTION

In India, the leaf webber is distributed in almost all traditional sericultural areas of Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu. The problem posed by this pest is reported to be more acute in irrigated mulberry gardens compared to rainfed mulberry gardens. The pest has assumed great significance not only because it causes extensive loss in leaf yield but also due to the fact that it serves as an alternate host for the dreaded diseases of silkworm like pebrine (*Nosema bombycis*) (Ramegowda and Geetha Bai, 2005) and white muscardine (*Beauveria bassiana*) (Gowda *et al.*, 2000).

Leaf webber is found to be distributed throughout the world viz., Japan, Myanmar, China, India (Jammu, Punjab, Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu), Malaysia, Korea, Indonesia and Vietnam (ESCAP, 1990; Narayanaswamy *et al.*, 1999). This pest has been recorded earlier in Malaysia (Sengupta *et al.*, 1990) and Nagaland, India (Gupta, 1994).

SEASONAL INCIDENCE

Rainfall triggers the emergence of moths with an increase in their activity, the pest builds up and causes the damage (Siddegowda *et al.*, 1995; Geetha Bai *et al.*, 1997). The leaf webber occurs on mulberry during June to February months. The incidence is about 22 per cent during June initially and increases to 85 and 100 per cent during September and December respectively. It decreases slowly to 50, 25 and 14 per cent during subsequent months of January, February and March respectively (KSSR & DI, 1998).

Rajadurai *et al.* (1999) recorded the average incidence of *D. pulverulentalis* in Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu states as 21.77 per cent with a leaf yield loss of 12.18 per cent. They observed the appearance of the pest with onset of monsoon (from June onwards) and the peak population from January onwards. Generally *D. pulverulentalis* appears during June and persists upto February, its average incidence was highest in Karnataka (27.85 %) followed by Andhra Pradesh (20.98 %) and Tamil Nadu (16.48 %).

Observations on the seasonal incidence of *D. pulverulentalis* by Sathyaseelan (1999) showed a negative association between maximum temperature and shoot damage/larval population, whereas a positive association existed between relative humidity and shoot damage/larval population.

Srinivasa Gowda *et al.* (2000) observed the peak incidence of *D. pulverulentalis* during January with 91.25 per cent infestation. The pest incidence was positively correlated with relative humidity and negatively correlated with the maximum and minimum temperature and sunshine hours. The total rainfall and wind velocity did not have any significant effect on the pest incidence. Gracy (2000) also observed the negative correlation of shoot damage and larval population of *D. pulverulentalis* with maximum and minimum temperature.

Tomy Philip *et al.* (2000) reported *D. pulverulentalis* in Kerala with an incidence of one to three per cent. Observations by Srinivasa Gowda *et al.*, (2001a) indicated that increase in moisture or relative humidity in and around the mulberry ecosystem could lead to higher infestation of *D. pulverulentalis*.

D. pulverulentalis appeared on the mulberry crop during the onset of monsoon (June – July) and remained active until February – March. The prevalence of pest was found to be the highest during

rainy season (10-27 %) followed by winter (8-10 %) and the least in summer (Gururaj and Choudhary, 2001).

Geetha Bai and Marimadaiah (2002) have reported number of caterpillars of *D. pulverulentalis* per plant as 1.65 during September, when the pest incidence was 70 per cent, which increased to 22.3 and 16.6 per plant during October and November, respectively when the pest incidence was 100 per cent. The number of caterpillars then gradually decreased from December till February with corresponding decrease in incidence.

Maximum incidence of *D. pulverulentalis* occurred in winter months October (23.75 %) and November (23.50 %), and minimum during February (3.40 %). The disappearance of this pest from March to May focuses on the possible pupal diapause (Ram Mohan Rao *et al.*, 2003).

Qadri *et al.* (2004) studied the natural incidence of *D. pulverulentalis* on mulberry and reported the infestation started after the commencement of southwest monsoon during June to July and reached peak during cooler months of October to December followed by gradual decline with onset of summer. Highest level of leaf webber infestation was recorded as 65 and 62 per cent with corresponding leaf yield loss of 12.7 and 12.2 per cent, respectively during the month of December.

Manjunath Gowda *et al.* (2004) observed the incidence of *D. pulverulentalis* in Kolar district from July 2002 to April 2003 and revealed the peak incidence of the pest during November 2002 with the random site incidence of 59.17 per cent, while the incidence was 12.12 per cent. The incidence of *D. pulverulentalis* had significant positive correlation with mean maximum temperature and relative humidity, and it was non-significantly correlated with rainfall.

BIOLOGY

Egg :

A gravid female adult of *D. pulverulentalis* laid on an average 100 eggs on the young leaves near the terminal buds of mulberry shoots at 1-2 eggs per shoot and the incubation period was 4-5 days. (ESCAP, 1990; KSSR & DI, 1999; Anonymous, 2003).

Narayanaswamy *et al.* (1999) observed that *D. pulverulentalis* laid eggs singly on tender leaves and the incubation period, larval period, pupal period and adult longevity was 4.0 - 6.0, 13.0 - 19.0, 4.0 - 11.0 and 6.0 - 10.0 days respectively when the temperature, humidity and photoperiod were 33 °C, 85 per cent and 11 hours respectively. Srinivasa Gowda *et al.* (1999) reported that the incubation period, larval period, pupal period and adult longevity was 4.0, 10.29, 6.02 and 6.0 days respectively when the temperature, humidity and photoperiod were 37 °C, 80 per cent and 13 hours respectively.

Larva:

The larva of *D. pulverulentalis* is pinkish to brown in colour (Ishii, 1953; Anonymous, 2003). Inoue (1981) and Inoue *et al.* (1982) observed that initially the larva was green in colour and on maturity turned to pinkish brown. Seol *et al.* (1986, 1987) and Honda *et al.* (1990) noticed five larval instars in *D. pulverulentalis*. KSSR & DI (1999) recorded that the colour of the larvae of *D. pulverulentalis* was greenish with black marking on the dorsal and lateral region of the abdomen. The head was black in colour. The larval duration ranged from 15 to 20 days.

Pupa:

The pupae of leaf webber were dark brown in colour. Pupation occurred in dried leaves and the pupal duration was 8 -10 days (KSSR & DI, 1999; Anonymous, 2003).



Fig. 1. Mulberry leaf webber larva (*D. pulverulentalis*).

*Fig. 1. Larve de l'enrouleur de la feuille de mûrier (*D. pulverulentalis*).*

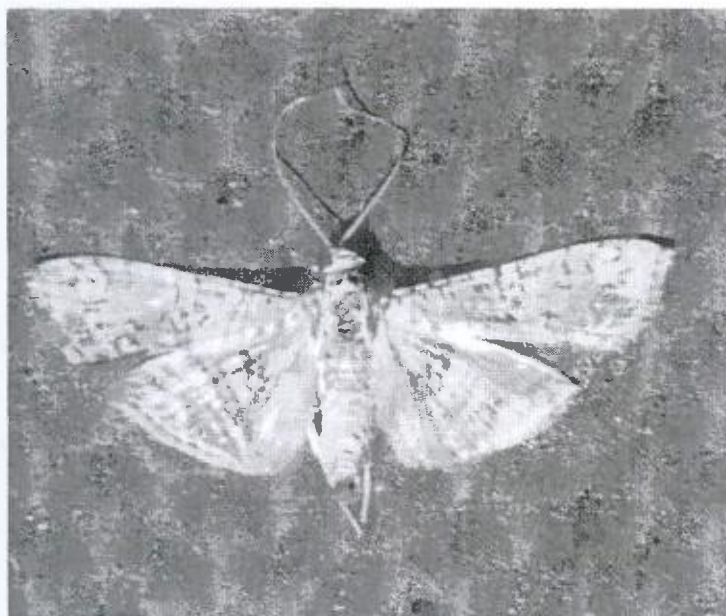


Fig. 2. Adult Leaf Webber.

Fig 2. Adulte de l'enrouleur de la feuille.

Adult:

The adult of leaf webber was black in colour, possessing stripes on lateral side of the abdomen. The anal portion of the adult moth contained a tuft of hairs. The forewings had markings obscured by many number of spots with stripe. The antimedial, medial and post medial bands were broader in forewings. The first denate was found inward on vein while in the case of second vein, the discal cellular spot was seen. The vein three had a series of pale specks on the outer edge from the vein four to the inner margin. Hindwings were thick and striated with black edged brown post medial and sub marginal bands almost meeting at a point the angle of cilia of fore and hindwings (Hampson, 1896; 1898). Moths are grayish brown in colour and measure about 1 cm in length. Wings have brownish wavy stripes. Moth lays 1 or 2 eggs on the apical portion of each shoot. Each female lays about 100 eggs (Anonymous, 2003; Manjunath, 2004).

NATURE OF DAMAGE AND LOSS

The early larvae of the pest inhibit the growth of apical succulent portion of shoot and leads to its destruction, resulting in stunted growth thereby affecting appreciable decline in leaf yield. The larvae of leaf webber defoliate the mulberry plantations. They web the tender leaves together, feed the content and skeletonize them. The larvae soil the leaves with their litter (CSR & TI, 1997).

Single leaf is rolled up and the young caterpillar is found inside the folded leaves. Grown up caterpillars feed voraciously on tender leaves and their faecal matter can be seen on the leaves below the affected portion (Anonymous, 2003). Apical shoots are destroyed due to egg laying thereby severely affecting the leaf yield and quality (Anonymous, 2008).

In Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu, *D. pulverulentalis* caused leaf yield loss to the tune of 12.8 per cent with an average incidence of 21.77 per cent (Rajadurai *et al.*, 2000). Kasi Reddy *et al.* (2003) reported the incidence of leaf webber and mulberry leaf loss were 70.3 per cent and 32.1 per cent, respectively.

NATURAL ENEMIES**Parasitoids:**

The scientists at KSSR & DI (1998), Bangalore recorded two braconid parasitoids viz., *Apanteles bisculata* and *A. agilis* which were abundant during December and January months. The per cent parasitisation of the above parasitoids on *D. pulverulentalis* was 11.1 and 10.5 respectively. The per cent parasitism by *A. bisculata* on *D. pulverulentalis* was 9.4, 67.8, 33.8 and 10.0 during July, August, September and February respectively.

Rajadurai *et al.* (1999) observed that the indigenous gregarious hymenopteran parasitoid, *Tetrastichus howardi* was found to parasitize the pupae of leaf webber and the parasitisation rate of 75.67 per cent was recorded in the laboratory population. The egg parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) parasitizes the eggs of leaf webber upto 80.33 per cent. Apart from these two parasitoids, *Apanteles* sp. (Hymenoptera : Braconidae), *Calosoma* sp. (Coleoptera : Carabidae), *Rhithus trochantrichus* (Hemiptera : Reduviidae) and *Goniozus indicus* (Hymenoptera : Bethylinidae) were also recorded from the leaf webber.

Sathyaseelan (1999) recorded *Chelonus* sp. as the egg larval parasitoid of the leaf webber in Tamil Nadu. The parasitism was six per cent during November and December months. Rajadurai *et al.*, (2000) recorded the parasitoids of *D. pulverulentalis*. The larval parasitoids were *A. taragamae* (71.18 %), *A. machaeralis* (65.80 %), *Bracon hebetor* (52.24 %) and *G. indicus* (42.90 %), egg parasitoid (77.83 %) and pupal parasitoid, *T. howardi* (58.67 %).

Three species of *Trichogramma*, namely *T. japonicum*, *T. dendrolimi* and *T. evanescens* were evaluated against *D. pulverulentalis*. Only *T. dendrolimi* and *T. evanescens* accepted leaf webber eggs for parasitisation and parasitism was higher in *T. evanescens* compared to *T. dendrolimi* (KSSR &

DI, 2000). Geetha Bai and Marimadaiah (2002) reported that *Pseudoscymnus noyesi* was the most important parasitoid of *D. pulverulentalis* and the highest parasitism recorded was 67.8 per cent.

Ram Mohan Rao *et al.* (2003) reported that release of parasitoids, *T. chilonis* and *T. howardi* at 0.25 million/ha each in four equal splits was found to reduce *D. pulverulentalis* damage by 71.7 per cent. Qadri *et al.* (2004) reported that *B. brevicornis* and *Apanteles* sp. were most common parasitoids and found to occur from September to January on late and early larval instars of leaf webber.

Sharma *et al.* (2002) observed that the natural population of *D. pulverulentalis* was found to be infected by *B. bassiana*, microsporidian (*N. bombycis*) and nuclear polyhedrosis viruses (NPV). Fifty per cent of the samples of disease affected leaf webber were infected with microsporidian, 38 per cent with NPV and 12 per cent with *B. bassiana* fungus.

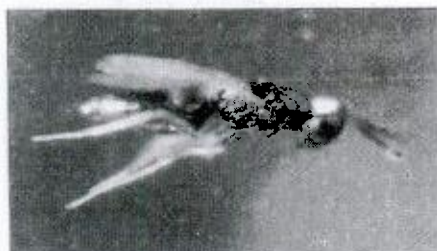
Natural enemies of mulberry leaf webber



Trichogramma chilonis



Chelonus blackburni



Tetrastichus howardi
(Female)



Tetrastichus howardi
(Male)

Fig. 3. Natural enemies of mulberry leaf webber.

Fig. 3. Ennemis naturels de l'enrouleur de la feuille de mûrier.

Predators:

In Karnataka, a reduviid predator, *Isyndus herus* (Fab.) (Hemiptera : Reduviidae) and an unidentified wasp were recorded on *D. pulverulentalis* (KSSR & DI, 1999). Gowda *et al.* (2001) recorded the predators such as *Menochilus sexmaculatus*, *Eocanthecona furcellata* and *Rhincocoris marginatus* against *D. pulverulentalis*.

Predators like Carabid beetle, *Calosoma* sp. and reduviids, *R. trochantrichus* and *I. heros* were recorded on *D. pulverulentalis* by Gracy *et al.* (2001) in Tamil Nadu. Qadri *et al.* (2004) recorded various predators viz., *Menochilus sexmaculatus*, *Tetragnatha* spp. and *Philodromus* spp. on *D. pulverulentalis*.

MANAGEMENT PRACTICES

Host plant resistance:

Ram Mohan Rao *et al.* (2003) studied the incidence of *D. pulverulentis* on different varieties of mulberry. Variety V1 registered highest incidence of 20.80 per cent followed by M5 (13.50 %), RFS 175 (9.50 %) and local variety (8.20 %).

Manjunath Gowda *et al.* (2004) studied the incidence of *D. pulverulentis* on popular varieties of mulberry viz., M5, V1 and S36. Variety V1 showed a higher random site incidence of (61.76 %), number of larvae per ten plants (14.0 larvae / 10 plants) and per cent damage (17.55 %), whereas S36 recorded a lower incidence (41.22 %), number of larvae (11.50/ 10 plants) and per cent damage (7.32 %).

Mechanical and Cultural control:

Deep ploughing of gardens and digging the soil after every pruning expose the *D. pulverulentis* pupae to sunlight and natural enemies. Placing food materials like rice meal inside the field attracts birds like mynah and parrots which consume the leaf webber larvae as well. Tying paddy straw as a rope around the stems and branches allows the larvae to pupate on it and simultaneous removal and burning of the straw effectively controls pest population (Rajadurai *et al.*, 1999).

Before planting the cuttings, one must ensure that it has been dressed. This precautionary quarantine measure prevents the possibility of leaf webber shifting from one place to another. Clipping and collecting the affected apical shoot and subsequently destroying them by burning reduce the population build up (Anonymous, 2003).

Lavanya Latha *et al.* (2003) studied the effect of fertilizer dosages and irrigation schedules for controlling leaf webber incidence on mulberry. The results showed that leaf webber incidence was less in the plot with nitrogenous fertilizer reduced by 25 per cent and applied in 2 splits / crop at 10th and 30th days after pruning and irrigation once in 10 days when compared to other treatments.

Botanical control :

Rajadurai *et al.* (1999) reported that Neem Seed Kernel Extract (NSKE), commercial neem formulation Rakshak (0.15 % Azadirachtin) and neem oil were found to be effective in controlling the pest at the dosage of 2.5, 0.015 and 5 per cent respectively. The safe period was 6-8 days. The aqueous neem seed kernel extract and pungam (*Pongamia pinnata*) seed extract both at 4 per cent were effective against leaf webber, *D. pulverulentis* (Srinivasa Gowda, 2000).

Neem oil 3 per cent in combination with 3 per cent pungam oil was effective against *D. pulverulentis*. The incidence was minimized by reduced application of nitrogenous fertilizer blended with neem cake @ 150 kg/ha followed by cakes of *P. pinnata* and *Ricinus communis* in which incidence was 0.3, 0.7, 0.8 and 1.0 per cent respectively compared to the incidence of 7.2 per cent in control (Samuthiravelu *et al.*, 2003).

Chemical control :

Dichlorvos at 0.2 per cent was recommended for the control of mulberry leaf webber *D. pulverulentis* (ESCAP, 1990). Sathyaseelan (1999) reported that spraying of phosalone (0.07 %) or dichlorvos (0.15 %) or malathion (0.10 %) on 40 day after pruning of mulberry was effective in reducing the larval population of *D. pulverulentis*. Application of 0.076 per cent dichlorvos at one ml/l in two split doses with an interval of 7-10 days prevented the pest entry. The safe period was 4 - 6 days (Rajadurai *et al.*, 1999).

Gracy (2000) reported carbaryl (0.2 %) as the most effective insecticide against *D. pulverulentis*, followed by dichlorvos (0.2 %) or propoxur (0.1 %) when sprayed on 30th day after pruning of mulberry. Spraying of mulberry foliage with dichlorvos 0.2 per cent followed by a second spray when the infestation exceeded 20 per cent was effective against *D. pulverulentis* (KSSR & DI, 1999; Anonymous, 2003).

Among the various insecticides tested against *D. pulverulentalis* on mulberry, dichlorvos (0.076 and 0.152 %) and deltamethrin (0.0014 %) were found to be highly effective. The number of larvae reached to zero level on mulberry plants treated with dichlorvos (0.152 %) and deltamethrin (0.0014 %) within four days after second spray (Srinivasa Gowda *et al.*, 2001b).

Foliar application of 0.072 per cent monocrotophos (36 % EC) at 2 ml/l, at 10 days after the pruning/leaf harvest, followed by spray of 0.076 per cent dichlorvos (76 % EC) 15 days after monocrotophos application gave effective control against *D. pulverulentalis*. Safe period was 7 days after dichlorvos application (Anonymous, 2008).

Integration of biocontrol with other methods of pest management:

Demonstration of Integrated Pest Management (IPM) against *D. pulverulentalis* was taken up in the Department of Sericulture farms of Karnataka, adopting three components of the IPM package viz., spray of DDVP, release of egg parasitoid and pupal parasitoid which resulted in suppression of pest incidence by 47 to 53 per cent over the control (CSR & TI, 2000). On-farm trials of IPM against leaf webber by Regional Sericultural Research Station, Chamarajanagar and Regional Sericultural Research Station, Salem indicated 2.54 to 7.35 per cent and 3.0 to 16.22 per cent reduction in the pest incidence respectively (CSR & TI, 2000).

Velavan (2001) reported that when the parasitoids, *T. chilonis* and *T. howardi* were integrated with spraying of propoxur (0.1 %), the larval population was reduced to 2.46 larvae / plant as against 60.37 in the control. Integrating the natural enemies viz., egg parasitoid at 5 cubic centimeter / ha (30 days after pruning) and pupal parasitoid at 0.25 million adults/ha (53 days after pruning) with chemical propoxur 20 EC (Emulsifiable Concentrate) at one per cent (45 days after pruning) showed significant reduction in leaf webber larval population by 61.38 per cent as well as shoot damage by 41.39 per cent over control (Velavan *et al.*, 2001).

An Integrated Pest Management strategy for mulberry leaf webber was devised by Tamil Nadu Agricultural University. This includes irrigating the mulberry field to expose the leaf webber pupae (on the day of pruning), releasing of *T. howardi* at 50,000/ha (one day after pruning) and *T. chilonis* at 5 cubic centimetre / ha (10 days after pruning), spraying of dichlorvos at 1 ml/l (30 days after pruning) and mechanical clipping and burning of affected shoots (40 days after pruning) (Muthuswami, 2004; Anonymous, 2008)

Leaf webber management – an analysis :

Among the various pest control methods adopted, application of inorganic pesticides has high significance in managing the leaf webber particularly when the population reaches an economic threshold level. Though pesticides can give quick relief to the pest problem owing to their knock down effect these strategies cannot be employed on the pest when the silkworm rearing is under progress, because of detrimental effect of the chemical on silkworm.

The use of pesticide on mulberry can also be discouraged due to its broad spectrum nature and therefore, can have a great fatal effect on the predators of leaf webber. Whenever chemical use becomes unavoidable, thrust must be given in choosing soft pesticide with very low persistency.

Constant monitoring of leaf webber is highly important so that need based management strategy can be adopted for its control. For neutralizing the potential threat of using inorganic chemical in mulberry crop, employing eco-friendly non-chemical methods become the need of the hour. Though adoption of organic way of pest management is time consuming and laborious, the untoward problems present in the inorganic method can be avoided. In this context, it is imperative to use the biological control agents and botanicals. For the purpose of using bio-agents in crop pest management, planning for mass production of bio-agents need to be made based on its surviving ability and predatory potential.

Botanicals can also be chosen as deserving candidate in pest management programmes without endangering the survival of non-target organisms as they are eco-friendly. They also exhibit compatibility with other biological products; the combined effectiveness of these agents will form a

very strong foundation in the suppression of leaf webber. Though use of biocontrol agents and botanicals have been advocated in mulberry leaf webber management, these have remained almost obsolete, as their adoption is yet to touch the desired point.

PRESENT STATUS OF LEAF WEBBER IN TAMIL NADU

◆ Sudden outbreak of leaf webber in sericulture cluster belts warranted a study to ascertain the pest status. An investigation was carried out by the scientists from Centre for Plant Protection Studies at Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore along with the extension personnel from State Department of Sericulture during 2006-07. Purposive sampling in leaf webber infested fields revealed the following information in order to give the coordinated strategies in future research programme.

◆ Leaf webber caused an average leaf yield loss of 32 per cent with the incidence of around 70 per cent in Tamil Nadu

◆ Pest incidence was observed round the year with high population from July to November

◆ All popular mulberry varieties viz., DD, S36, V1, K2 and MR2 were found to be damaged by the leaf webber

◆ Infestation is observed from 15 days through 70 days after pruning or leaf harvest.

◆ Excessive application of nitrogenous fertilizers increased the pest intensity.

◆ Promoting the activity of bird predators by providing them with water in small containers in and around mulberry plantations considerably reduced pest population.

FUTURE LINE OF RESEARCH

⇒ Estimating the yield loss due to leaf webber in terms of leaf and cocoon by systematic survey in sericulture belts.

⇒ Devising ideal forewarning system to facilitate the farmers to adopt precautionary measures against pest outbreak.

⇒ Screening high yielding mulberry varieties in endemic areas of various geographical regions for identifying tolerant / resistant varieties.

⇒ Reaction of different mulberry genotypes to leaf webber damage and documenting mechanism of resistance.

⇒ Identifying an effective new molecule of insecticide to manage the pest.

⇒ Exploring the role of plant products to develop cheap and ecologically safe pest management strategy.

⇒ Identifying native natural enemies specific to leaf webber and standardizing mass production technique to superimpose with other components of Integrated Pest Management .

⇒ Remodeling of cost effective pest management package.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1999) Compliance Report, SDC Project, Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 84 p.
- ANONYMOUS (2003) Mulberry diseases and pests – control measures, *In* : Handbook of Sericulture Technologies, S.B. Dandin, Jayant Jayaswal and K. Giridhar (Eds.), Central Silk Board, Bangalore, pp. 87-89.
- ANONYMOUS (2008) Insect pests of mulberry and their management. *In* : Sericulture Technology K.A. Murugesh, S. Subramanian and R. Krishnan (Eds.), Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. pp. 17-18.

- BIRADAR N.A. (1989) Faunistic study of arthropods infesting *Morus* spp. and biology of *Euproctis fraterna* (Lepidoptera : Lymantriidae). M.Sc. (Seri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, 120 p.
- CSR & TI (1997) Annual Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India. pp.86-91.
- CSR & TI (2000) Annual Report. Central Sericultural Research and Training Institute. Mysore, India. p.53.
- ESCAP (1990) Handbook on Pest and Disease Control of Mulberry and Silkworm. United Nations Economic and Social Commission for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand, 88 p.
- GEETHA BAI M, MARIMADIAH B (2002) Seasonal occurrence of the mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) and its parasitoids. Entomon, 27 (1) : 51 – 56.
- GEETHA BAI M., MARIMADIAH R, NARAYANASWAMY K.C., RAJAGOPAL, D. (1997) An outbreak of leaf roller pest, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) on mulberry in Karnataka. Geobios New Reports, 16 : 73 – 79.
- GOWDA R.S., NARAYANASWAMY T.K., SREERAMULU K.R. (2000) Cross infectivity of *Bombyx mori* L. pathogens to the mulberry leaf roller pest *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) In: Abstracts of National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development, CSR & TI, Mysore, 6-18 Nov., 2000. p 80-81.
- GOWDA, R.S., NARAYANASWAMY T.K., SANNAVEERAPPANAVAR V.T. (2001) Natural enemies of *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) infesting mulberry. Pestology, 25 (4) : 23-26.
- GRACY R.G. (2000) Management of Mulberry leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) M.Sc. (Ag) Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. 78 p.
- GRACY R.G., CHANDRAMOHAN N., MUTHUSWAMI M. (2001) Integrated Pest Management for mulberry leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). In: Abstracts of national seminar on emerging trends in pests and diseases and their management, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 11-13 Oct., 2001. pp 192-193.
- GUPTA S.L. (1994) Check list of Indian Pyraustinae (Lepidoptera : Pyralidae), Memoriae Ent. Soc., India, 14 : 1-87.
- GURURAJ R., CHOUDHARY C.C. (2001) Epidemiology of leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) and its management through IPM in mulberry at farmers field. In: National seminar on "Mulberry Sericulture Research in India". Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore. 26-28 Nov, 2001, p 194.
- HAMPSON G.F. (1896) The Fauna of British India, Ceylon and Burma. Vol. IV. W.T. Blanford, Taylor and Francis (Eds.), London, pp 345 -364.
- HAMPSON G.F. (1898) A revision of the moths of the sub family Pyraustinae and family Pyralidae. Proceedings of Zoological Society, London, 21 : 590 – 693.
- HONDA H., ANDO T., OGURA Y., TERAMINE T., UEDA R. (1990) Identification of the sex pheromone of the mulberry pyralid, *G. pyloalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). Appl. Ent. Zool., 25 (2) : 265 – 272.
- INOUE H. 1981. A new species of *Glyphodes* from Japan, with Biological notes, TINEA, 11 : 91-98.
- INOUE H., SUGI S., KRIUTI H., KAWABE A. (1982) Moths of Japan, Kodansha, Tokyo, 1 : 347
- ISHII G. (1953) Important mulberry pest, mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker, Shokubutsuhoeki, 7 : 128 – 132.
- KASI REDDY B., VENIGOPAL A., REDDY C.C. (2003) Seasonal incidence of leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) Estimation of leaf yield loss in mulberry and impact of Integrated Pest Management at field level. In: Abstracts of National Conference on Tropical Sericulture for Global Competiveness. CSR & TI, Mysore, 5-7th November, p. 65.

- KOTIKAL K. (1982) Studies on the pests of mulberry *Morus alba* L. with special reference to Bihar hairy caterpillar, *Spilosoma obliqua* Walker (Lepidoptera : Arctiidae) M.Sc. (Ag) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, p.73.
- KOTIKAL K., DEVAIAH M.C. (1987) Insect and non insect pests of mulberry, *Morus alba* L. In: Proceedings of Seminar on Prospects and Problems of Sericulture in India. Vellore, pp. 179 – 183.
- KSSR & DI. (1998) Annual Report. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore, p. 173.
- KSSR & DI. (1999) Leaf roller infestation of mulberry plantations and its management. Annual Report, Karnataka State Sericultural Research and Development Institute, Bangalore, p. 81.
- KSSR & DI. (2000) Annual Report. Karnataka State Sericultural Research and Development Institute, Bangalore, pp 92-93.
- LAVANYA LATHA K., HARIHARAJU, JEYARAJ S. (2003) Studies on the effect of fertilizer doses and irrigation schedules for the control of tukra mealybug and leaf webber on mulberry. In: Seminar on Disease and Pest Management in Sericulture. UAS, Bangalore, R. Govindan, (Ed.), 12-13 Sep., 2003. p.16.
- MANJUNATH D. (2004) Pests of mulberry and their management in sericulture. R. Govindan, Ramakrishna Naika, B. Sannappa and D. Chandappa (Eds.). Seri Scientific Publishers, Bangalore, 213 pp.
- MANJUNATH GOWDA, NINGE GOWDA K.N., NARAYANASWAMY K.C., REDDY D.N. R. (2004) Field incidence of mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) in Kolar district. In: Progress of Research on Disease and Pest Management in Sericulture. R. Govindan, Ramakrishna Naika and B. Sannappa (Eds.), Seri Scientific Publishers, Bangalore, pp. 54-62.
- MUTHUSWAMI M. (2004) Management of major pests of mulberry and silkworm, In: Proceedings of the UGC sponsored state level seminar/workshop on "Sericulture Technology Transfer to Farmers of the SC/ST Population 29-30 Sep. Kongunadu Arts and Science College, Coimbatore., T. Thangaraj (Ed.), pp. 39-45.
- NARAYANASWAMY K.C. (2005) Use of botanicals in pest and disease management in sericulture. In: Advance in Organic Sericulture and Seri-byproduct utilization. R. Govindan, Ramakrishna Naika, B. Sannappa and D. Chandrappa (Eds.), Seri Scientific publishers, Bangalore.
- NARAYANASWAMY K.C., GEETHA BAI M., RAGUMARAN R. (1996) Mite pests of mulberry – A review. Indian J. Seric., 35 (1) : 1-8.
- NARAYANASWAMY T.K., GOVINDAN R., SRINIVASA GOWDA R., SANNAVEERAPPANAVAR V.T. (1999) Current status of mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera: Pyralidae) In: Abstracts of National Seminar on Tropical Sericulture. University of Agricultural Sciences, Bangalore. 28 - 30 Dec., 1999. P 1 – 22.
- QADRI S.M.H., BALASARASWATHI S., PUNITHAVATHY G., THIRUNAVUKKARASU T. (2004) Studies on seasonal incidence of leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) and occurrence of its natural enemy complex in mulberry under Tamil Nadu conditions. In: Progress of Research on Diseases and Pests Management in Sericulture. R. Govindan, Ramakrishna Naika, B. Sannappa and D. Chandrappa (Eds.), Seri Scientific Publishers, Bangalore. p 63-65.
- RAJADURAI S., SEN A.K., MAJUNATH D., DATA R.K. (2000) Natural enemy fauna of mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) and its potential. In: Abstract of paper presented at National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development, CSRTI, Mysore. pp. 50.
- RAJADURAI S., MANJUNATH D., KATIYAR R.L., PRASAD K.S., SEN A.K., SHEKHAR M.A., AHSAN M., DATTA R.K. (1999) Leaf roller – A serious pests of mulberry. Indian Silk, 37 (12) : 9-12.
- RAMA MOHAN RAO P., NARENDHRA KUMAR J.B., GURUPRASAD R., JEYARAJ S. (2003) Studies on the incidence and management of mulberry leaf webber, *Diaphania pulverulentalis*

- (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). In: National Seminar on Disease and Pest Management on Sericulture. University of Agricultural Sciences, Bangalore. R. Govindan, (Ed.). 12 -13 Sep., 2003, p.13.
- RAMEGOWDA T., GEETHA BAI (2005) Transovarial transmission of pebrine spores, *Nesema bombycis* Naegeli in the leaf roller pests of mulberry *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae), *Sericologia*, 45 (2) : 137 -141.
- SAMUTHIRAVELU P., SURESH A., JEYARAJ S. (2003) Effect of botanical and biological control tactics against mulberry tukra mealy bug, *Maconellicoccus hirsutus*. In: National Seminar on Disease and Pest Management in Sericulture, Sericulture College, Chintamani, 12-13 Sep., 2003. p.19.
- SATHYASEELAN V. (1999) Biology and management of leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) on mulberry. M. Sc (Ag.) Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 84 p.
- SENGUPTA K., KUMAR P., BAIG M., GOVINDAIAH (1990) Handbook on Pest and Disease Control of Mulberry and Silkworm. United Nations, Economics and social Commission for Asia and the Pacific, Thailand, pp 1-42.
- SEOL K.Y., KANAOKA A., HONDA H., MATSUMOTO Y. (1986) Artificial diets for mass rearing of the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). *Appl. Ent. Zool.*, 21 (1) : 109 – 113.
- SEOL K.Y., KANAOKA A., HONDA H. MATSUMOTO Y. (1987) Crossing experiments and the behavioural study of two types of mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). *Appl. Ent. Zool.*, 22 (1) : 77 – 84.
- SHARMA S.D., CHANDRASEKHARAN K., NATARAJAN B., BALAVENKATASUBBIAH M., SELVAKUMAR T., THIAGARAJAN V. (2002) Microbial control of leaf roller, *D. pulverulentalis*, *Indian Silk*, 41 (4) : 10.
- SIDDEGOWDA D. K., VINOD KUMAR G., SEN A.K., ENCHAMIN K.V., MANJUNATH D., SATYAPRASAD K., MAGDUM S.B. DATTA R.K. (1995) *Diaphania* sp. infests mulberry in South India. *Indian Silk*, 34 (8) : 6-8.
- SINGH R.N., SAMSON M.V., DATTA R.K. (2000) Pest Management in Sericulture. Central Silk Board, Bangalore, 387 p.
- SRINIVASA GOWDA R., NARAYANASWAMY T.K., SANNAVEERAPPANAVAR V.T. (1999) Biology of mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). In: Abstracts of National Seminar on Tropical Sericulture. R. Govindan, K.P. Chinnaswamy, N. K. Krishnaprasad and D.N.R. Reddy (Eds.) UAS, Bangalore, 28-30 Dec., pp. 1 - 22.
- SRINIVASA GOWDA R., NARAYANASWAMY T.K. SANNAVEERAPPANAVAR V.T. (2000) Seasonal incidence of mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). In: Abstract paper presented at National Conference on strategies for Sericulture Research and Development, CSR & TI, Mysore. pp.42.
- SRINIVASA GOWDA R., T.K. NARAYANASWAMY, V.T. SANNAVEERAPPANAVAR (2001a) Natural enemies of *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera: Pyralidae) infesting mulberry. *Sericologia*, 41 (4) : 615 - 619.
- SRINIVASA GOWDA R., NARAYANASWAMY T.K., SREERAMULU K.R. (2001b) Management of the mulberry leaf roller, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). In: National Seminar on "Mulberry Sericulture Research in India". Karnataka State Sericulture Research and Development Institute. 26-28 Nov., 2001. p 206.
- TOMY PHILIP, MARY JOSEPHA A.V., SOUDAMINY P.V. (2000) Insect pests of mulberry in Kerala. In: Abstract of paper presented at National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development, CSR & TI, Mysore, p.58.
- VEERANNA G. (1998) Insect pests of mulberry and their management in China. *Indian Silk*, 37 (2) : 5-9.
- VELA VAN S.S. (2001) Biological suppression of mulberry leaf webber, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae). M.Sc. (Ag) Dissertation, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, p. 7.

- VELAVAN S.S., SUBRAMANIAN S.S., MUTHUSWAMI M. (2001) Integration of biocontrol agents with chemical method for the management of mulberry leaf webber, *Glyphodes pulverulentalis* (Hampson) at Coimbatore. In: Abstracts of National Seminar on Emerging Trends in pests and diseases and their management, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 11-13 Oct., 2001, p.193.

PRATIQUES DE LUTTE CONTRE L'ENROULEUR DE LA FEUILLE DU MÛRIER, *DIAPHANIA PULVERULENTALIS* (HAMPSON) (LEPIDOPTERA : PYRALIDAE) EN INDE

M. MUTHUSWAMI, K. A. MURUGESH, R. KRISHNAN & G. DEVI

Department of Sericulture, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, Inde.

*Le mûrier (*Morus alba* L.) est la seule plante hôte de *Bombyx mori* L et est donc un composant économique principal de la sériciculture. La culture est sujette à l'attaque par plus de 300 espèces d'insectes parasites. Parmi eux, l'enrouleur de la feuille, *Diaphania pulverulentalis*, est important. Le parasite est distribué dans les zones séricicoles traditionnelles du Karnataka, du Tamil Nadu et de l'Andhra Pradesh. Il provoque une perte de rendement foliaire de l'ordre de 32 %, avec une incidence de plus de 70%. Le parasite a pris une grande importance non seulement parce qu'il entraîne des pertes sévères en matière de rendement et de qualité de la feuille de mûrier, mais aussi parce qu'il sert d'hôte alterné aux maladies du ver à soie comme la pébrine et la muscardine blanche. Il est donc impératif d'adopter une stratégie de Lutte Intégrée pour arrêter la propagation de ce parasite majeur et pour la durabilité de l'industrie séricicole.*

INTRODUCTION

Le feuillage du mûrier est la seule source alimentaire du ver à soie, *Bombyx mori* L., il est donc un composant économique principal de la sériciculture, puisque la qualité de la feuille produite par surface unitaire est en relation directe avec la récolte de cocons. Plusieurs facteurs ont un effet sur la qualité et la quantité de feuilles de mûrier produites comme la sélection de variétés de mûrier adaptées, l'adoption de techniques de production appropriées et la lutte contre les parasites et les maladies du mûrier.

Les insectes infligent des pertes importantes à l'industrie séricicole, en attaquant à la fois les vers à soie et leurs plantes hôtes. Le mûrier est sujet à des attaques par des insectes parasites variés pendant les différentes saisons tout au long de l'année. Les membres des principaux ordres d'insectes qui sont connus comme parasites du mûrier, appartiennent aux Lépidoptères, aux Hémiptères, aux Coléoptères, aux Thysanoptères, aux Orthoptères et aux Isoptères (Narayanaswamy, 2005). Une estimation raisonnable du *Central Silk Board*, en Inde, a révélé que les insectes seuls sont capables de provoquer autour de 20 % de perte de production de soie (Singh et coll., 2000).

La culture du mûrier est affectée par plus de 300 espèces d'insectes (Kotikal, 1982 ; Kotikal et Devaiah, 1987 ; Biradar, 1989 ; ESCAP, 1990 ; Narayanaswamy et coll., 1996 ; Veeranna, 1998). Cependant, parmi ceux-ci seulement environ 60 insectes sont d'une importance économique qui justifie des pratiques de lutte strictes.

L'enrouleur de la feuille, *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera : Pyralidae) est un parasite majeur du mûrier en Inde. Ce parasite s'est manifesté pour la première fois en 1995 dans plusieurs endroits de la zone séricicole traditionnelle du Karnataka (Geetha Bai et coll., 1997). Depuis quelque temps, l'enrouleur de la feuille de mûrier, *D. pulverulentalis*, un nouvel envahisseur du Karnataka au Tamil Nadu représente une menace importante pour les fermiers. La larve englue la portion apicale par sa sécrétion soyeuse et dévore le contenu de la feuille, ce qui entraîne un manque de feuilles pour les premiers âges. Comme le met en évidence la perte de rendement foliaire d'environ 12,18 % dans le Karnataka, des stratégies de lutte prophylactiques immédiates sont nécessaires pour

stopper la propagation du parasite (Rajadurai et coll., 1999). Les dégâts provoqués par ce parasite entraînent une perte économique d'environ 2,19 millions dollars par an dans le Tamil Nadu (Anonyme, 1999).

DISTRIBUTION

En Inde, l'enrouleur de la feuille est distribué dans presque toutes les zones séricicoles traditionnelles du Karnataka, de l'Andhra Pradesh et du Tamil Nadu. On a signalé que le problème posé par ce parasite est plus important dans les muraies irriguées que dans les muraies non irriguées. Le parasite a pris une importance significative non seulement parce qu'il entraîne des pertes de rendement foliaire importantes, mais aussi parce qu'il sert d'hôte alterné aux maladies redoutées du ver à soie, comme la pébrine (*Nosema bombycis*) (Ramegowda et Geetha Bai, 2005) et la muscardine blanche (*Beauveria bassiana*) (Gowda et coll., 2000).

On constate que l'enrouleur de la feuille est distribué dans le monde entier, c'est-à-dire au Japon, au Myanmar, en Chine, en Inde (Jammu, Punjab, Karnataka, Andhra Pradesh et Tamil Nadu), en Malaisie, en Corée, en Indonésie et au Vietnam (ESCAP, 1990 ; Narayanaswamy et coll., 1999). On a déjà signalé ce parasite en Malaisie (Sengupta et coll., 1990) et dans le Nagaland, en Inde (Gupta, 1994).

INCIDENCE SAISONNIERE

Les précipitations déclenchent l'émergence des papillons et leur activité augmente et le nombre de parasites augmente et entraîne des dégâts (Siddegowda et coll., 1995 ; Geetha Bai et coll., 1997). L'enrouleur de la feuille est présent sur le mûrier de juin à février. L'incidence est d'environ 22 % en juin au début et passe à respectivement 85 % et 100 % en septembre et décembre. Il diminue lentement et passe respectivement à 50, 25 et à 14 % pendant les mois suivants de janvier, février et mars (KSSR & DI, 1998).

Rajadurai et coll., (1999) ont enregistré une incidence moyenne de *D. pulverulentalis* dans le Karnataka, l'Andhra Pradesh et le Tamil Nadu de 21,77 % avec une perte de rendement foliaire de 12,18 %. Ils ont observé l'apparition du parasite avec le début de la mousson (à partir de juin et une population record à partir de janvier). Généralement, *D. pulverulentalis* apparaît en juin et persiste jusqu'à février, son incidence moyenne est la plus élevée dans le Karnataka (27,85 %), suivi par l'Andhra Pradesh (20,98 %) et le Tamil Nadu (16,48 %).

Les observations sur l'incidence saisonnière de *D. pulverulentalis* par Sathyaseelan (1999) montrent une association négative entre la température maximum et les dégâts pour les pousses / la population larvaire, tandis qu'il existe une association positive entre l'humidité relative et les dégâts pour les pousses / la population larvaire.

Srinivasa Gowda et coll., (2000) ont observé l'incidence record de *D. pulverulentalis* en janvier avec une infestation de 91,25 %. L'incidence du parasite est corrélée positivement avec l'humidité relative et corrélée négativement avec la température maximum et minimum et avec les heures d'ensoleillement. Les précipitations totales et la vitesse du vent n'ont pas d'effet significatif sur l'incidence du parasite. Gracy (2000) a aussi observé une corrélation négative entre la température maximum et minimum et les dégâts pour les pousses et la population larvaire de *D. pulverulentalis*. Tomy Philip et coll., (2000) ont signalé *D. pulverulentalis* dans le Kerala avec une incidence d'un à trois pourcent. Les observations par Srinivasa Gowda et coll., (2001a) indiquent que l'augmentation de l'humidité ou de l'humidité relative dans et autour de l'écosystème du mûrier pourrait entraîner une infestation plus élevée de *D. pulverulentalis*.

D. pulverulentalis apparaît sur la culture du mûrier au début de la mousson (juin – juillet) et demeure actif jusqu'à février – mars. La présence du parasite s'avère la plus élevée pendant la saison des pluies (10–27 %), suivie par l'hiver (8–10 %) et la présence est la moins importante en été (Gururaj et Choudhary, 2001).

Geetha Bai et Marimadaiah (2002) ont signalé que le nombre de chenilles de *D. pulverulentalis* par plant est de 1,65 en septembre, quand l'incidence du parasite est de 70 %, qui augmente à 22,3 et 16,6 par plant en octobre et en novembre, respectivement quand l'incidence du parasite est de 100 %. Puis, le nombre de chenilles baisse progressivement de décembre à février avec une baisse correspondante de l'incidence.

L'incidence maximum de *D. pulverulentalis* se produit pendant les mois d'hiver en octobre (23,75 %) et en novembre (23,50 %) et l'incidence est minimum en février (3,40 %). La disparition de ce parasite de mars à mai fait qu'il serait possible qu'il ait une diapause nymphale (Ram Mohan Rao et coll., 2003).

Qadri et coll., (2004) ont étudié l'incidence naturelle de *D. pulverulentalis* sur le mûrier et signalé que l'infestation commence après le début de la mousson du sud-ouest de juin à juillet et atteint son pic pendant les mois les plus froids d'octobre à décembre, suivi par un déclin progressif au début de l'été. On enregistre le niveau le plus élevé de l'infestation par l'enrouleur de la feuille de 65 et 62 % avec une perte correspondante de rendement foliaire de respectivement 12,7 et 12,2 %, pendant le mois de décembre.

Manjunath Gowda et coll., (2004) ont observé l'incidence de *D. pulverulentalis* dans la zone de Kolar de juillet 2002 à avril 2003 et ont révélé l'incidence record du parasite en novembre 2002 avec une incidence aléatoire sur le site de 59,17 %, alors que l'incidence est de 12,12 %. L'incidence de *D. pulverulentalis* présente une corrélation positive significative avec la température moyenne maximum et l'humidité relative, et elle est corrélée de manière non significative avec les précipitations.

BIOLOGIE

Oeuf :

Une femelle adulte gestante de *D. pulverulentalis* pond en moyenne 100 œufs sur les jeunes feuilles près des bourgeons terminaux des pousses de mûrier, à raison de 1 à 2 œufs par pousse et la période d'incubation est de 4 à 5 jours (ESCAP, 1990 ; KSSR & DI, 1999 ; Anonyme, 2003).

Narayanaswamy *et al.* (1999) ont observé que *D. pulverulentalis* pond des œufs individuellement sur les feuilles tendres et la période d'incubation, la durée larvaire, la durée nymphale et la longévité adulte sont de respectivement 4 à 6, 13 à 19, 4 à 11 et 6 à 10 jours quand la température, l'humidité et la photopériode sont respectivement de 33° C, de 85 % et de 11 heures. Srinivasa Gowda et coll., (1999) ont signalé que la durée d'incubation, la durée larvaire, la durée nymphale et la longévité adulte sont de respectivement 4 ; 10,29 ; 6,02 et 6 jours quand la température, l'humidité et la photopériode sont de respectivement 37° C, 80 % et 13 heures.

Larve :

La larve de *D. pulverulentalis* est de couleur rosâtre à marron (Ishii, 1953 ; Anonyme, 2003). Inoue (1981) et Inoue et coll., (1982) ont observé qu'au début la larve est de couleur verte et elle devient marron rosâtre lorsqu'elle est mûre. Seol et coll., (1986, 1987) et Honda et coll., (1990) ont observé cinq âges larvaires chez *D. pulverulentalis*. Le KSSR & DI, (1999) a observé que les larves de *D. pulverulentalis* sont de couleur verdâtre avec une marque noire sur la zone dorsale et latérale de l'abdomen. La tête est noire. La durée larvaire est comprise entre 15 à 20 jours.

Nymphe :

Les nymphes de l'enrouleur de la feuille sont marron foncé. La nymphose se produit sur les feuilles sèches et la durée nymphale est de 8 à 10 jours (KSSR & DI, 1999 ; Anonyme, 2003).

Adulte :

L'adulte de l'enrouleur de la feuille est de couleur noire, il possède des rayures sur le côté latéral de l'abdomen. La partie anale du papillon adulte contient une touffe de poils. Les ailes avant ont des

marques obscurcies par un grand nombre de taches avec des rayures. Les bandes antimédianes, médianes et postmédianes sont plus larges sur les ailes avant. Le premier denate se trouve à l'intérieur sur la nervure tandis qu'on observe la tache cellulaire disco sur la deuxième nervure. La troisième nervure a une série de petites taches pales sur le bord externe, de la quatrième nervure jusqu'au bord interne. Les ailes postérieures sont épaisses et striées avec des bandes post médianes marron et submarginales au bord noir, qui se rencontrent presque à l'angle d'un point des ailes avant et arrière (Hampson, 1896 ; 1898). Les papillons sont marron grisâtre et mesurent environ 1 cm de longueur. Les ailes ont des bandes marron ondulées. Les papillons pondent 1 ou 2 œufs sur la partie apicale de chaque pousse. Chaque femelle pond environ 100 œufs (Anonyme, 2003 ; Manjunath, 2004).

NATURE DES DEGATS ET DES PERTES

Les premières larves du parasite inhibent la croissance de la partie apicale succulente de la pousse et entraînent sa destruction, ce qui entraîne un ralentissement de la croissance et entraîne donc un déclin appréciable du rendement foliaire. Les larves de l'enrouleur de la feuille défeuillent les plantations de mûrier. Ils engluent les feuilles tendres ensemble, s'en nourrissent et les squelettisent. Les larves salissent les feuilles avec leurs excréments (CSR & TI).

La feuille s'enroule et on trouve les jeunes chenilles à l'intérieur des feuilles enroulées. Les chenilles mûres se nourrissent voracement sur les feuilles tendres et on peut observer leurs matières fécales sur les feuilles en dessous de la partie atteinte (Anonyme, 2003). Les pousses apicales sont détruites à cause de la ponte des œufs, ce qui affecte très sévèrement le rendement foliaire et la qualité (Anonyme, 2008).

Dans le Karnataka, l'Andhra Pradesh et le Tamil Nadu, *D. pulverulentalis* entraîne une perte de rendement foliaire de l'ordre de 12,8 % avec une incidence moyenne de 21,77 % (Rajadurai et coll., 2000). Kasi Reddy et coll., (2003) ont signalé que l'incidence de l'enrouleur de la feuille et la perte de feuilles de mûrier sont de respectivement 70,3 et 32,1 %.

ENNEMIS NATURELS

Parasitoïdes :

Les scientifiques du KSSR & DI de Bangalore ont enregistré deux parasitoïdes braconides en l'occurrence *Apanteles bisulata* et *A. agilis* qui sont abondants pendant les mois de décembre et janvier. Le pourcentage de parasitisme par ces parasitoïdes sur *D. pulverulentalis* est de respectivement 11,1 et 10,5 %. Le pourcentage de parasitisme par *A. bisulata* sur *D. pulverulentalis* est de respectivement 9,4 ; 67,8 ; 33,8 et 10 % en juillet, août, septembre et février.

Rajadurai et coll., (1999) ont observé que le parasitoïde hyménoptère grégaire indigène, *Tetrastichus howardi* parasite les nymphes de l'enrouleur de la feuille et on enregistre un taux de parasitisme de 75,67 % dans la population de laboratoire. Le parasitoïde, *Trichogramma chilonis* (Hyménoptère : Trichogrammatidae) parasite les œufs de l'enrouleur de la feuille jusqu'à 80,33 %. En plus de ces deux parasitoïdes, on a aussi enregistré *Apanteles* sp. (Hyménoptère : Braconidé), *Calosoma* sp. (Coléoptères : Carabidés), *Rihirbus trochantrichus* (Hétopptère : Reduviidae) et *Goniozus indicus* (Hyménoptère : Bethyilidae) sur l'enrouleur de la feuille.

Sathyaseelan (1999) a enregistré *Chelonus* sp. comme parasitoïde larvaire de l'œuf de l'enrouleur de la feuille dans le Tamil Nadu. Le parasitisme est de 6 % en novembre et en décembre. Rajadurai et coll., (2000) ont répertorié les parasitoïdes de *D. pulverulentalis*. Les parasitoïdes larvaires sont *A. taragamae* (71,18 %), *A. machaeralis* (65,80 %), *Bracon hebetor* (52,24 %) et *G. indicus* (42,90 %), le parasitoïde de l'œuf (77,83 %) et le parasitoïde nymphal (58,67 %), *T. howardi*.

On a évalué trois espèces de *Trichogramma*, à savoir *T. japonicum*, *T. dendrolimi* et *T. evanescens* contre *D. pulverulentalis*. Seuls *T. dendrolimi* et *T. evanescens* acceptent de parasiter les œufs de l'enrouleur de la feuille et le parasitisme est plus élevé avec *T. evanescens* qu'avec *T. dendrolimi* (KSSR & DI, 2000). Geetha Bai et Marimadaiah (2002) ont signalé que *Pseudoscymnus noyesi* est

le parasitoïde le plus important de *D. pulverulentalis* et le parasitisme le plus élevé qu'on enregistre est de 67,8 %.

Ram Mohan Rao et coll., (2003) ont signalé que la libération des parasitoïdes, *T. chilonis* et *T. howardi* à raison de 0,25 millions chacun / ha, en quatre doses séparées s'avère diminuer les dégâts provoqués par *D. pulverulentalis* de 71,7 %. Qadri et coll., (2004) ont signalé que *B. brevicornis* et *Apanteles* sp. sont les parasitoïdes les plus courants et ils sont présents de septembre à janvier sur les derniers et les premiers stades de l'enrouleur de la feuille.

Sharma et coll., (2002) ont observé que la population naturelle de *D. pulverulentalis* s'avère être infestée par *B. bassiana*, la microsporidie *N. bombycis* et le virus de la polyédrose nucléaire (NPV). Cinquante pourcent des échantillons de l'enrouleur de la feuille affectés par les maladies sont infestés par le microsporidien, 38 % par le NPV et 12 % par le champignon *B. bassiana*.

Prédateurs :

Dans le Karnataka, on a enregistré un prédateur réduviidé, *Isyndus herus* (Fab.) (Hemiptère : Reduviidé) sur *D. pulverulentalis* ainsi qu'une guêpe non identifiée (KSSR & DI, 1999). Gowda et coll., (2001) ont enregistré les prédateurs tels que *Menochilus sexmaculatus*, *Eocanthecona furcellata* et *Rhincocoris marginatus* contre *D. pulverulentalis*.

Gracy et coll., (2001) ont répertorié les prédateurs comme le scarabée Carabique, *Calosoma* sp. et les réduviidés, *R. trochantrichus* et *I. heros* sur *D. pulverulentalis* dans le Tamil Nadu. Qadri et coll., (2004) ont répertorié des prédateurs variés, *Menochilus sexmaculatus*, *Tetragnatha* spp. et *Philodromus* spp. sur *D. pulverulentalis*.

PRATIQUES DE LUTTE

Résistance de la plante hôte :

Ram Mohan Rao et coll., (2003) ont étudié l'incidence de *D. pulverulentalis* sur différentes variétés de mûrier. La variété V1 enregistre l'incidence la plus élevée de 20,80 %, suivie par M5 (13,50 %), RFS 175 (9,50 %) et la variété locale (8,20 %).

Manjunath Gowda et coll., (2004) ont étudié l'incidence de *D. pulverulentalis* sur des variétés populaires de mûrier c'est-à-dire, M5, V1 et S36. La variété V1 présente une incidence aléatoire sur le site (61,76 %), un nombre de larves pour dix plants (14 larves / 10 plants) et un pourcentage de dommages plus élevés (17,55 %), tandis que S36 enregistre une incidence (41,22 %), un nombre de larves (11,50 / 10 plants) et un pourcentage de dommages (7,32 %) plus faibles.

Lutte mécanique et culturale :

Lorsqu'on laboure profondément les muraies et qu'on creuse le sol après chaque taille, cela expose les nymphes de *D. pulverulentalis* à la lumière du soleil et aux ennemis naturels. Si l'on place des aliments comme du riz sur le terrain, cela attire les oiseaux comme le martin et les perroquets, qui consomment également les larves de l'enrouleur de la feuille. Attacher de la paille de riz en guise de corde autour des troncs et des branches permet aux larves de se transformer en chrysalides et si l'on retire simultanément la paille et qu'on la brûle, cela lutte efficacement contre la population de parasites (Rajadurai et coll., 1999).

Avant de planter des boutures, il faut s'assurer qu'elles ont été pansées. Cette mesure de quarantaine préventive empêche l'enrouleur de la feuille de se déplacer d'un endroit à un autre. Si l'on coupe et qu'on recueille les pousses apicales atteintes et qu'ensuite on les détruit en les brûlant, cela diminue l'augmentation de la population (Anonyme, 2003).

Lavanya Latha et coll., (2003) ont étudié l'effet des doses d'engrais et des calendriers d'irrigation pour lutter contre l'incidence de l'enrouleur de la feuille sur le mûrier. Les résultats montrent que l'incidence de l'enrouleur de la feuille est moins importante dans la parcelle avec un engrais azoté, elle diminue de 25 %, lorsqu'on l'applique en 2 doses / récolte le 10^{ème} et le 30^{ème} jour après la taille et avec une irrigation tous les 10 jours, par comparaison aux autres traitements.

Lutte botanique :

Rajadurai et coll., (1999) ont signalé que l'extrait de noyau de margousier (NSKE), la formulation commerciale de margousier, le Raksha (azadirachtine à 0,15 %) et l'huile de margousier s'avèrent efficaces aux doses de respectivement 2,5 ; 0,015 et 5 % pour lutter contre le parasite. La période de sécurité est de 6 à 8 jours. L'extrait aqueux de noyau de margousier et le bouillon d'extrait de graine de hêtre indien (*Pongamia pinnata*) à 4 % s'avèrent efficaces contre l'enrouleur de la feuille, *D. pulverulentalis* (Srinivasa Gowda, 2000).

L'huile de margousier à 3 % en combinaison avec de l'huile de hêtre indien est efficace contre *D. pulverulentalis*. L'incidence est minimisée par une diminution de l'application d'engrais azotés mélangés avec du tourteau de margousier à raison de 150 kg / ha, suivis par des tourteaux de *P. pinnata* et de *Ricinus communis* avec lesquels l'incidence est de respectivement 0,3 ; 0,7 ; 0,8 et 1 % par comparaison à l'incidence de 7,2 % chez le témoin (Samuthiravelu et coll., 2003).

Lutte chimique :

On recommande le Dichlorvos à 0,2 % pour lutter contre l'enrouleur de la feuille de mûrier *D. pulverulentalis* (ESCAP, 1990). Sathyaseelan (1999) a signalé que la vaporisation de phosalone (0,07 %), de dichlorvos (0,15 %) ou de malathion (0,10 %) le 40^{ème} jour après la taille du mûrier est efficace pour diminuer la population larvaire de *D. pulverulentalis*. L'application de dichlorvos à 0,076 % à raison d'un ml / l en deux doses séparées à un intervalle de 7 à 10 jours empêche l'entrée du parasite. La durée de sécurité est de 4 à 6 jours (Rajadurai et coll., 1999).

Gracy (2000) a signalé le carbaryl (0,2 %) comme l'insecticide le plus efficace contre *D. pulverulentalis*, suivi par le dichlorvos (0,2 %) ou le propoxur (0,1 %) quand on le vaporise le 30^{ème} jour après la taille du mûrier. La vaporisation du feuillage du mûrier avec du dichlorvos à 0,2 %, suivie par une seconde vaporisation quand l'infestation dépasse 20 % est efficace contre *D. pulverulentalis* (KSSR & DI, 1999 ; Anonyme, 2003).

Parmi les divers insecticides testés contre *D. pulverulentalis* chez le mûrier, le dichlorvos (0,076 et 0,152 %) et la deltaméthrine (0,0014 %) s'avèrent très efficaces. Le nombre de larves atteint le niveau zéro sur les plants de mûrier traités avec le dichlorvos (0,152 %) et la deltaméthrine (0,0014 %) quatre jours après la deuxième vaporisation (Srinivasa Gowda et coll., 2001b).

L'application foliaire de 0,072 % de monocrotophos (36 % EC) à raison de 2 ml / l, dix jours après la taille / la récolte des feuilles, suivie par une vaporisation de 0,076 % de dichlorvos (76 % EC) 15 jours après l'application de monocrotophos permet de lutter efficacement contre *D. pulverulentalis*. La période de sécurité est de 7 jours après l'application de dichlorvos (Anonyme, 2008).

Intégration de la lutte biologique avec d'autres méthodes de lutte contre les parasites :

On a fait une démonstration de la Lutte Intégrée contre les Parasites (IPM) contre *D. pulverulentalis* dans le Département des Fermes séricicoles du Karnataka, en adoptant trois composantes de l'ensemble IPM, c'est-à-dire, la vaporisation de DDVP, la libération de parasitoïdes de l'œuf et de parasitoïdes de la nymphe, qui ont entraîné la diminution de l'incidence du parasite de 47 à 53 % par rapport au témoin (CSR & TI, 2000). Les essais en ferme de l'IPM contre l'enrouleur de la feuille par les Stations de Recherche Séricicoles Régionales de Chamaraajanagar et de Salem indiquent respectivement une diminution de l'incidence des parasites de 2,54 à 7,35 % et de 3 à 16,22 % (CSR & TI, 2000).

Velavan (2001) a signalé que quand on intègre les parasitoïdes *T. chilonis* et *T. howardi* avec la vaporisation de propoxur (0,1 %), la population larvaire diminue et passe à 2,46 larves / plant contre 60,37 chez le témoin. L'intégration d'ennemis naturels, c'est-à-dire de parasitoïdes de l'œuf à raison de 5 centimètres cubes / ha (30 jours après la taille) et de parasitoïdes nymphaux à raison de 0,25 millions adultes / ha (53 jours après la taille) entraîne une diminution significative de la population

de l'enrouleur de la feuille de 61,38 %, ainsi que des dommages pour les pousses de 41,39 % par rapport au témoin (Velavan et coll., 2001).

L'Université Agricole du Tamil Nadu a conçu une Stratégie de Lutte Intégrée contre l'enrouleur de la feuille. Elle inclut l'irrigation de la muraille pour exposer les nymphes de l'enrouleur de la feuille (le jour de la taille), la libération de *T. howardi* à raison de 50 000 / ha (un jour après la taille) et de *T. chilonis* à 5 centimètres cubes / ha (10 jours après la taille), la vaporisation de dichlorvos à raison de 1 ml / l (30 jours après la taille) et de couper et de brûler les pousses affectées (40 jours après la taille) (Muthuswami, 2004 ; Anonyme, 2008).

Analyse de la lutte contre l'enrouleur de la feuille

Parmi les différentes méthodes de lutte adoptées contre le parasite, l'application de pesticides non biologiques est assez importante pour lutter contre l'enrouleur de la feuille, en particulier quand la population atteint le niveau seuil sur le plan économique. Bien que les pesticides peuvent soulager rapidement le problème du parasite grâce à leur effet très destructeur, on ne peut pas employer ces stratégies sur le parasite au cours de l'élevage du ver à soie, à cause de l'effet négatif des produits chimiques pour le ver à soie.

On peut aussi décourager l'utilisation de pesticides chez le mûrier à cause de leur spectre important, qui peut donc avoir un effet fatal important pour les prédateurs de l'enrouleur de la feuille. Quand l'utilisation de produits chimiques devient inévitable, il faut mettre l'accent sur l'utilisation de pesticides doux à persistance très faible.

La lutte constante contre l'enrouleur de la feuille est très importante pour pouvoir adopter une stratégie de lutte basée sur les besoins. Pour neutraliser la menace potentielle contenue dans l'utilisation des produits chimiques non écologiques dans la culture du mûrier, à l'heure actuelle il est nécessaire d'employer des méthodes écologiques non chimiques. Bien que l'adoption d'une méthode biologique de lutte contre les parasites prenne du temps et soit laborieuse, elle permet d'éviter les problèmes fâcheux qu'entraînent les méthodes non biologiques. Dans ce contexte, il est impératif d'utiliser des agents de lutte biologique et des substances botaniques. Si l'on veut utiliser des agents de lutte biologique dans la gestion des parasites des cultures, il faut procéder à la planification de la production en masse des agents de lutte biologique, d'après leur capacité de survie et leur potentiel prédateur.

On peut aussi choisir les substances botaniques comme candidats méritoires dans les programmes de lutte contre les parasites, sans mettre en danger la survie des organismes non ciblés, puisqu'ils sont écologiques. Ils présentent aussi une compatibilité avec d'autres produits biologiques ; l'efficacité combinée de ces agents représente une base solide pour supprimer l'enrouleur de la feuille. Bien que l'utilisation d'agents de lutte biologique ait été recommandée pour lutter contre l'enrouleur de la feuille de mûrier, leur adoption n'a pas encore atteint le seuil désiré.

SITUATION ACTUELLE CONCERNANT L'ENROULEUR DE LA FEUILLE DANS LE TAMIL NADU

♦ Une éruption soudaine de l'enrouleur de la feuille dans les zones séricicoles a justifié la réalisation d'une étude sur la situation concernant le parasite. Une étude a été entreprise par les scientifiques du Centre d'Etudes pour la Protection des Plantes de l'Université Agricole du Tamil Nadu, à Coimbatore avec le personnel de vulgarisation du Département de Sériciculture Gouvernementale de 2006 à 2007. Un échantillonnage aléatoire dans les terrains infestés par l'enrouleur de la feuille a donné les informations suivantes, pour permettre de coordonner les stratégies des futurs programmes de recherche.

♦ L'enrouleur de la feuille entraîne une perte moyenne de rendement foliaire de l'ordre de 32 % avec une incidence d'environ 70 % dans le Tamil Nadu.

♦ On observe l'incidence du parasite toute l'année, avec une population élevée de juillet à novembre.

- ◆ Toutes les variétés de mûrier populaires, c'est-à-dire DD, S36, V1, K2 et MR2 sont attaquées par l'enrouleur de la feuille.
- ◆ On observe une infestation entre 15 à 70 jours après la taille ou la récolte des feuilles.
- ◆ L'application excessive d'engrais azotés augmente l'intensité du parasite.
- ◆ Encourager l'activité des oiseaux prédateurs en leur mettant de l'eau dans de petits récipients dans et autour des plantations de mûrier diminue considérablement la population de parasites.

FUTURS AXES DE RECHERCHE

- ⇒ Estimation de la perte de rendement due à l'enrouleur de la feuille, en termes de feuilles et de cocons, par une évaluation systématique dans les zones séricicoles
- ⇒ Conception d'un système idéal de prévision pour faciliter l'adoption de mesures préventives par les fermiers contre l'éruption du parasite.
- ⇒ Evaluation de variétés de mûrier à rendement élevé dans les zones endémiques de différentes zones géographiques pour identifier les variétés tolérantes / résistantes.
- ⇒ Réaction des différents géotypes de mûrier par rapport aux dégâts provoqués par l'enrouleur de la feuille et information sur leur mécanisme de résistance.
- ⇒ Identification d'une nouvelle molécule d'insecticide efficace pour lutter contre le parasite.
- ⇒ Exploration du rôle de produits à base de plantes afin de mettre au point une stratégie de lutte contre le parasite bon marché et sans risque sur le plan écologique.
- ⇒ Identification d'ennemis naturels indigènes spécifiques à l'enrouleur de la feuille et standardisation d'une technique de production en masse à intégrer aux autres composantes du Système de Gestion Intégrée des Parasites
- ⇒ Réorganisation d'un programme rentable de gestion des parasites.

HETEROBELTIOSIS IN F1 HYBRIDS OF WILD AND DOMESTICATED ECORACES OF TROPICAL TASAR SILKWORM *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY

R. MANOHAR REDDY*, G. HANSDA, N. G. OJHA & N. SURYANARAYANA

P4 Division, Central Tasar Research & Training Institute, Central Silk Board, Piska Nagri, Ranchi [Jharkhand] - 835 303, India.

Hybridization of two wild ecoraces Jata and Raily with semi-domesticated Daba was conducted to study the heterobeltiosis on yield contributing characters during seed crop rearing season. The F1 hybrid Raily × Daba has recorded heterobeltiosis in cocoon weight, shell weight, silk ratio and larval weight and F1 of Jata × Daba in shell weight, silk ratio and larval duration. The F1 of Jata × Daba with high pupal × high shell combination has recorded heterobeltiosis in fecundity in addition to pupal weight, shell weight and silk ratio. The F1 combination of Jata × Daba with high shell weight × high shell weight has recorded heterobeltiosis in all the cocoon characters like cocoon, pupal, shell weights and silk ratio in addition to larval weight. Jata, Raily and Daba parents in hybrid combinations have indicated positive heterobeltiosis in cocoon characters except in ERR and cocoon yield. The high pupal weight × high pupal weight and high pupal weight × high shell weight specific F1 combinations of Jata × Daba indicated high heterobeltiosis for fecundity and high shell weight × high shell weight F1 combinations of Jata × Daba and Raily × Daba for shell weight and silk ratio. This infers that F1s of Jata × Daba and Raily × Daba in combination with desired characters having the prospect of obtaining high yielding hybrids and scope to depict specific lines for improving fecundity and shell weight.

Keywords: *Antheraea mylitta*, F1 hybrid, heterobeltiosis, wild ecorace.

INTRODUCTION

For the sustenance of any industry, optimal yield and effective cost of production is essential. The cocoon yield in the tasar silkworm *Antheraea mylitta* is low, which primarily depends on fecundity, hatching, effective rate of rearing [ERR], cocoon weight and silk content. Earlier studies on F1 hybrid in sericulture have shown heterosis and heterobeltiosis in economic traits (Sengupta *et al.*, 1987), which was the expression of interaction among the contributing factors (Ajit Kumar Sinha *et al.*, 1995; Sinha *et al.*, 2001; Sinha and Srivastava 2004). Choosing of genetically diverged parents is of vital importance in breeding to evolve better varieties (Jain *et al.*, 1981) and most of the quantitative parameters are highly heritable and hence useful in tasar silkworm breeding (Sen *et al.*, 1976; Suryanarayana *et al.*, 1987; Siddiqui *et al.*, 1988). Variations of ecoraces even after several generations indicate their genetic divergence and Raily, Modal are differing from Daba in many parameters (Srivastava *et al.*, 2001). Maximum heterosis of 136.8% for absolute silk yield reported in GF3 × N1 cross (Sinha *et al.*, 1998), good general combining ability for fecundity, ERR, and absolute silk yield in N1 & N2 (Sinha *et al.*, 1994) and registered more than 100% heterosis over mid parent value in GF3 × N1 and GE1 × N1 (Sinha *et al.*, 1998). Selection of bigger cocoon / pupa, which lay a higher number of eggs, is of great concern in breeding (Ravindra Singh *et al.*, 1994). Daba × Modal & Raily × Laria showed high heterosis for fecundity, hatching and yield contributing traits

* Email: dr.manohar1959@rediffmail.com

(Naqvi *et al.*, 2004). Presently only two semi-domesticated ecoraces, Daba and Sukinda are contributing to the major production of tropical tasar cocoons in India and utilisation of hybrid vigour and heterobeltiosis in tasar culture is essential. Hence, in the present study, the two wild ecoraces Jata [Orissa] and Raily [Chhattisgarh] and semi-domesticated Daba [Jharkhand] were used to raise and evaluate F1 hybrids.

MATERIALS AND METHODS

The (8) eight F1 hybrids (two general and six specific) raised using wild ecoraces, Jata and Raily and semi-domesticated Daba along with parents were reared simultaneously in a randomized block design with three replications each in seed crop [Jul-Aug] rearings on the economic plantation of *Terminalia tomentosa* at field laboratory of Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagari, Ranchi. Larvae of one Dfl in each cross as well as in parents were considered as one replication and observations were recorded randomly with equal numbers of sample for fecundity [FEC], hatching percentage [HAT], larval weight [LRW], larval duration [LRD], effective rate of rearing [ERR], cocoon yield [YLD], single cocoon weight [SCW], single pupal weight [SPW], single shell weight [SSW] and silk ratio percentage [SR%]. To study the performance of hybrid on fecundity and silk ratio, six (6) specific combinations were made on the basis of high pupal weight $\times$ high pupal weight as [P $\times$ P], high pupal weight $\times$ high shell weight as [P $\times$ S] and high shell weight $\times$ high shell weight as [S $\times$ S]. The data recorded on different parameters in the study was subjected to statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on parents (Table I) indicates the divergence in voltinism, fecundity, food plant, cocoon characters and reeling parameters of ecoraces Jata, Raily and Daba, which are from different ecogeographic areas of the country i.e. Orissa, Chhattisgarh and Jharkhand. The two wild races i.e. Jata and Raily are superior in all cocoon commercial characters over the semi-domesticated Daba except for cocoon yield. The combination of parental better characters and exploitation through heterosis at F1 is vital for optimizing the silk production and returns in commercial tasar culture.

ANOVA (Table II) showed a significant variation in mean sum of squares of all the parameters except for larval weight among parents, except pupal weight among hybrids and except in fecundity, larval weight, cocoon and pupal weights among parents VS hybrids. This indicates the existence of genetic diversity among the parents and potentiality for positive heterotic and heterobeltiotic response in respect of seed, larval and cocoon characters.

The data of seed crop (Table III) shows that Jata $\times$ Daba F1 combination recorded heterosis and heterobeltiosis in shell weight, silk ratio, cocoon weight, larval weight and larval duration. The Raily $\times$ Daba F1 combination showed better heterosis and heterobeltiosis in shell weight, silk ratio, cocoon weight, pupal weight and larval weight. However, the ERR and cocoon yield have recorded negative heterosis and heterobeltiosis in all the general and specific F1 hybrid combinations. Among the specific F1 combinations, Jata $\times$ Daba [P $\times$ S] has recorded positive heterosis and heterobeltiosis in all the parameters except in hatching, while the same combination of Raily $\times$ Daba ecoraces was positive only in hatching and larval duration. The Jata $\times$ Daba [P $\times$ P] F1 combination has recorded significant heterosis and heterobeltiosis in fecundity and marginal in larval weight, larval duration, shell weight, pupal weight and silk ratio and the same combination of Raily $\times$ Daba had better heterobeltiosis in hatching and larval duration only. The Jata $\times$ Daba [S $\times$ S] F1 combination has recorded better heterosis and heterobeltiosis in all the characters except fecundity, while it was very marginal in hatching. The Raily $\times$ Daba [S $\times$ S] F1 combination recorded better positive heterosis and heterobeltiosis in hatching, shell weight, silk ratio, while it was marginal in larval duration and weight. The early spinning of cocoon by larva i.e. decrease in larval duration is advantage in tasar culture and for the reason, the

heterobeltiosis showed ascending over heterosis for shorter larval duration [MPH>BPH], which is vice versa for other yield contributing parameters [MPH < BPH].

The degree of heterosis can be measured in comparison to mean of the two parents i.e. midparent as MPH and mean of better parent as BPH. However, the commercial utilization of heterosis is only based on the excess of that of better parent i.e. heterobeltiosis, which is emphasized in the present experiment. The general F1 hybrids of wild and semi-domesticated parents i.e. Jata × Daba and Raily × Daba have shown heterobeltiosis in larval and cocoon characters in the desired direction. Earlier studies of Jolly *et al.* (1969) and Bardiayar *et al.* (1975) revealed very little heterosis, whereas Sengupta *et al.* (1987), Suryanarayana *et al.* (1987), Siddiqui (1997) and Naqvi *et al.* (2004) reported significant heterosis and heterobeltiosis for various economic characters in *Antheraea mylitta* D. Falconer (1985) reported that heterosis is the function of dominance effect and genetic distance between the parents. In the present study, the parents are from different ecogeographic areas with considerable variability in their phenotypic and commercial characters and thus, their genetic diversity found to be the imperative reason for the better heterobeltiosis in larval and cocoon characters

Table I. Character variations of parental ecoraces.

Tableau I. Variation des caractères des écoraces parentales.

Parameter	Jata		Raily		Daba	
	Range	Ave.	Range	Ave.	Range	Ave.
Paramètre	Fourchette	Moyenne	Fourchette	Moyenne	Fourchette	Moyenne
Cocoon wt. / Poids du cocon	12.24-14.80	13.52	13.06 -16.03	14.04	9.20 - 12.83	10.63
Pupal wt. / Poids nymphal	9.90 - 12.44	11.17	10.77 -13.69	11.73	7.72 - 10.33	9.02
Shell wt. / Poids de la coque	1.60- 2.34	2.05	1.97 - 2.82	2.23	1.25 - 2.36	1.80
Silk ratio % % de richesse soyeuse	15.94-18.95	17.45	15.67 -19.67	18.66	14.13 - 16.28	15.07
Fecundity / Fécondité	250 - 350	315	240 - 290	255	180- 230	200
Cocoon yield Rendement en cocons	15- 19	17	18 - 25	21	50 - 75	60
Filament length Longueur du filament	840 - 1550	1184	570 - 1750	1385	475 - 1240	962
NBFL	52 - 635	325	80 - 540	295	79 - 475	230
Origin / Origine	Simlipal (Orissa)		Bastar (Chhattisgarh)		Singhbhum (Jharkhand)	
Food plant / Plante hôte	<i>Terminalia</i> species Espèces Terminalia		<i>Shorea</i> species Espèces Shorea		<i>Terminalia</i> species Espèces Terminalia	
Voltinism Nombre de mues	Univoltine		Bivoltine		Bivoltine	

Table II. Anova for seed, larval & cocoon characters of parents & hybrids.

Tableau II. Analyse de variance pour les caractères de la graine, de la larve et des cocons des parents et des hybrides.

SOURCE : MEAN SUM OF SQUARES / SOURCE : SOMME DES CARRES MOYENS

	DF	FEC	HAT	LRW	LRD	ERR	YLD	SCW	SPW	SSW	SR%
Replicates / Répétitions	02	00009.1	013.6	02.5	00.5	0020.2	0017.8	0.63	0.84	0.03	06.2
Parents	02	01823.4 *	157.9 *	09.6 NS	05.2 *	2493.8 ***	4630.1 ***	1.45 **	0.69 *	0.14 **	05.9 *
Hybrids Hybrides	07	11152.2 ***	891.3 ***	17.9 **	13.6 ***	0290.7 ***	0455.3 ***	1.06 **	0.38 NS	0.19 ***	08.8 **
Parents vs hybrids Parents par rapport aux hybrides	01	01394.7 **	042.8 NS	11.9 NS	21.7 ***	3625.8 ***	7840.9 ***	0.38 NS	0.02 NS	0.59 ***	46.8 ***
Error / Ecart	20	00475.0	037.8	04.1	01.4	0024.9	0062.9	0.19	0.18	0.02	01.6

* : Significant at 5% level / Significatif au seuil de 5 %
 ** : Significant at 1% level / Significatif au seuil de 1 %
 *** : Significant at 0.1% level / Significatif au seuil de 0,1 %
 NS : Non significant / Non significatif

FEC : Fecundity / Fécondité
 HAT : Hatching / Ecllosion
 LRW : Larval weight / Poids larvaire
 LRD : Larval duration / Durée larvaire
 ERR : Effective rate of rearing / Taux effectif d'élevage
 YLD : Cocoon yield / Rendement en cocons
 SCW : Single cocoon weight / Poids d'un cocon
 SPW : Single pupal weight / Poids d'une nymphe
 SSW : Single shell weight / Poids de la coque
 SR % : Silk ratio percentage / Richesse soyeuse.

Table III . Heterosis [MPH] and heterobeltiosis [BPH] (%) for seed, larval & cocoon characters in general & specific F1 hybrid combinations.

Tableau III. Pourcentage de vigueur hybride (MPH) et d'hétérobeltiose (BPH) pour les caractères de la graine, de la larve et du cocon chez des combinaisons hybrides F1 générales et spécifiques.

HYBRID	HET	FEC	HAT	LRW	LRD	ERR	YLD	SCW	SPW	SSW	SR%
J × D	MPH	-5.88	-4.14	2.35	14.58	-30.18	-38.64	2.77	-0.46	42.00	36.62
	BPH	-14.40	-14.01	1.26	17.38	-37.65	-44.33	1.42	-0.58	39.21	30.8
R × D	MPH	-30.63	7.76	18.29	-7.56	-56.08	-66.10	10.86	4.97	54.24	40.95
	BPH	-36.62	-0.17	13.67	-3.22	-72.83	-79.38	4.52	0.32	32.85	24.53
J×D[P × P]	MPH	36.20	-30.63	4.60	5.08	-48.10	-50.00	0.41	1.04	6.00	4.73
	BPH	23.87	-37.79	3.49	8.20	-53.65	-54.64	-0.92	0.93	3.92	0.28
R×D[P×P]	MPH	-33.33	35.80	-4.79	10.92	-57.69	-61.02	-6.16	-6.85	-1.69	6.24
	BPH	-39.09	25.80	-8.51	14.52	-73.82	-76.29	-11.53	-10.98	-15.33	-6.13
J×D[S×S]	MPH	-5.88	12.24	8.86	1.69	-65.19	-62.50	9.24	4.87	59.00	44.35
	BPH	-14.40	0.66	7.69	4.92	-68.91	-65.98	7.80	4.74	55.88	38.2
R×D[S×S]	MPH	-39.19	55.64	5.54	-0.84	-63.05	-64.41	1.17	-4.20	41.52	35.24
	BPH	-44.44	44.18	1.42	3.22	-77.14	-78.35	-4.61	-8.45	21.90	19.49
J×D[P×S]	MPH	24.43	-31.57	5.08	6.78	-55.51	-61.36	4.21	1.74	37.00	30.34
	BPH	13.17	-38.63	3.96	9.84	-60.26	-64.95	2.84	1.59	34.31	24.79
R×D[P×S]	MPH	-24.32	20.21	-2.32	8.40	-56.06	-59.32	-3.03	-5.19	12.71	17.93
	BPH	-30.86	11.36	-6.14	12.10	-72.81	-75.26	-8.58	-9.40	-2.92	4.19

J×D = Jata × Daba, **R×D** = Raily × Daba, **[P×P]** = High Pupal wt. female & High Pupal wt. male / *Pds. nymphal élevé de la femelle & pds. nymphal élevé du mâle*. **[P×S]** = High Pupal wt. female & High Shell wt. male / *Pds. nymphal élevé de la femelle & pds. élevé de la coque du mâle*. **[S×S]** = High Shell wt. female & High Shell wt. male / *Pds. élevé de la coque de la femelle & pds. élevé de la coque du mâle*.

MPH: Mid parent heterosis [Heterosis] / *Hétérosis par rapport au parent médian* [Heterosis], **BPH**: Better parent heterosis [Heterobeltiosis] / *Hétérosis par rapport au meilleur parent* [hétérobeltiose].

FEC : Fecundity / *Fécondité* **HAT** : Hatching / *Éclosion* **LRW** : Larval weight / *Poids larvaire* ; **LRD** : Larval duration / *Durée larvaire*. **ERR** : Effective rate of rearing / *Taux effectif d'élevage*, **YLD** : Cocoon yield / *Rendement en cocons*, **SCW** : Single cocoon weight / *Poids d'un cocon*, **SPW** : Single pupal weight / *Poids d'une nymphe*, **SSW** : Single shell weight / *Poids d'une coque* ; **SR%** : Silk ratio percentage / *Richesse soyeuse*.

However, the negative trends in respect of ERR and cocoon yield might be due to non-allelic interaction which can either increase or decrease the expression of heterosis. This might be partly due to negative heterosis in fecundity and hatching in addition to the influence of environment, leaf quality, predators etc.,

The better positive heterobeltiosis for fecundity in F1 combinations of high pupal weight $\times$ high pupal weight of Jata $\times$ Daba [P $\times$ P] and high pupal weight $\times$ high shell weight of Jata $\times$ Daba [P $\times$ S] might be due to specific combining ability for fecundity and the observation is corroborating with the findings of Sengupta *et al.* (1987), Siddiqui, (1997) and Naqvi *et al.* (2004). The positive correlation between pupal weight and fecundity and its greater concern in breeding concept reported by Shaheen *et al.* (1992) and Ravindra Singh *et al.* (1994). Also the specific F1 combinations Jata $\times$ Daba [S $\times$ S] and Raily $\times$ Daba [S $\times$ S] show a positive heterosis and heterobeltiosis in shell weight, silk ratio in addition to hatching and larval characters which indicates the influence of parents with high shell weight in manifesting the heterobeltiosis for shell weight and silk ratio. The expression of character wise heterosis and heterobeltiosis among the specific F1 hybrid combinations might be due to the involvement of specific parents.

Jata, Raily and Daba parents which are best combiners in F1 hybrids indicated high positive heterosis and heterobeltiosis for larval weight, larval duration, cocoon weight, shell weight and silk ratio. Specific F1 combinations viz. Jata $\times$ Daba [P $\times$ P], [P $\times$ S] indicated good combinability for fecundity with positive heterobeltiosis and Jata $\times$ Daba [S $\times$ S] and Raily $\times$ Daba [S $\times$ S] show a positive heterobeltiosis in shell weight and silk ratio indicates better combinability for shell weight. This infers that F1s of Jata $\times$ Daba and Raily $\times$ Daba in combination with desired characters have the prospect of obtaining high yielding hybrids and scope to depict specific lines for improving fecundity and shell weight.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Sri. Suresh Rai, Scientist-C, Statistics Division for the help in statistical analysis of the data.

REFERENCES

- AJIT KUMAR SINHA, SENGUPTA.A.K., SHARMA.K.K., SINHA.B.R.R.PD., SINHA.S.S. (1995), Yield components and their implication to better genotype of *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera : Saturnalia), *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 8: 617-626.
- BARDIAYAR.V.V, JOLLY.M.S, BENCHAMIN.K.V, SINHA.B.R.R.Pd. (1975), Heterosis in relation to single, three way and double crosses in *Antheraea mylitta* D., Indian J. Seric., 15, 3-8.
- FALCONER,D.S. (1985) Introduction to quantitative Genetics, English language book society, Longman, London.
- JAIN.R.C., PANDYA.B.D., PANDE.K. (1981), Genetic divergence in chickpea, Indian J. Genet, 41: 220-225.
- JOLLY.M.S., BARDIAYAR.V.N., NARASIMHANNA M.N., RAJDAN D.L. (1969) Diallel cross analysis of quantitative characters of four races of Indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. Indian J. Seric., 25-33.
- NAQVI.A.H., SRIVASTAVA.A.K., SINHA.A.K., VISWAKARMA.S.R., ROY.G.C. (2004), Heterosis and combining ability analysis in quantitative traits of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D, *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 11: 495-501.
- RAVINDRA SINGH., CHATURVEDI.H.K., DATTA.R.K. (1994), fecundity of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. in relation to female cocoon weight and repeated matings, Indian J. Seric. 33 (1) : 70-71.

- SEN.S.K., SENGUPTA.A.K., JOLLY.M.S. (1976), Studies on genetic variability correlation and path coefficient discriminate function in *Antheraea mylitta* D, *Indian J. Seri.* 15 : 9-14.
- SENGUPTA.A.K., SIDDIQUI.A.A., DASMOHAPATRA.D.P. (1987), Studies on the potentials of heterosis in tropical tasar *Antheraea mylitta* D, *Sericologia*, 27(3) : 519-524.
- SHAHEEN.A., TRAG.A.R., NABI.G.H., AHMAD.F., (1992) Correlation between female pupal weight and fecundity in bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. *Entomon*, 17(1&2), 109-111.
- SIDDIQUI.A.A. (1997), Studies on heterosis and heterobeltiosis in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D, *Sericologia*, 37(1) : 59-65.
- SIDDIQUI.A.A., SENGUPTA.A.K., AJITKUMAR., SENGUPTA.K. (1988), Genetic and phenotypic variability of some quantitative characters in *Antheraea mylitta* D, *Sericologia*, 28 : 187-192.
- SINHA.A.K., BAJPAI.C.M., SINHA.B.R.R.PD., THANGAVELU.K. (1994), Combining ability analysis for some quantitative characters in *Antheraea mylitta* D, *Proc. Conf. on Cytol. Genet.* 4 : 31-35.
- SINHA.B.R.R.PD., SRIVASTAVA.A.K. (2004), Path co-efficient analysis in nine yield contributing traits of twenty eight genotypes of *Antheraea mylitta* Drury, *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 11: 243-249.
- SINHA.A.K., SRIVASTAVA.A.K., SINGH.B.M.K., KAR.P.K., SINHA.B.R.R.PD., SINHA.S.S. (1998), Hybrid vigour and hybrid breeding in tropical tasar *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera : Saturniidae), *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.) 9 : 625-629.
- SINHA.A.K., SRIVASTAVA.A.K., SINHA.B.R.R.PD., THANGAVELU.K. (2001), Direct and indirect effects of quantitative characters on silk yield in eight inbred lines of *Antheraea mylitta* Drury, *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 10: 849-852.
- SRIVASTAVA.A.K., KAR.P.K., NAQVI.A.H., SINHA.A.K., SINGH.B.M.K., SINHA.B.R.R.PD., THANGAVELU.K. (2001), Biochemical variation in ecoraces of *Antheraea mylitta* : A review, *perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 10: 359-364.
- SURYANARAYANA.N., SENGUPTA.K., BRAMHACHARI.B.N. (1987), Heterosis and combining ability in Indian tasar silk worm (*Antheraea mylitta* D), *Sericologia*, 27(4) : 701-709.

HETEROBELTIOSE CHEZ LES HYBRIDES F1 D'ECORACES SAUVAGES ET DOMESTIQUES DU VER A SOIE TASAR, *ANTHRAEA MYLITA* DRURY

R. MANOHAR REDDY*, G. HANSDA, N. G. OHJA & N. SURYANARAYANA

P4 Division, Central Tassar Research & Training Institute, Central Silk Board, Piska Nagri, Ranchi (Jharkhand) – 835 303, Inde.

Nous avons réalisé l'hybridation de deux races sauvages Jata et Raily avec Daba, une race semi-domestique pour étudier l'hétérobeltiliose sur les caractères contribuant au rendement pendant la saison d'élevage de la récolte de grainage. L'hybride F1 Raily × Daba enregistre une hétérobeltiliose pour le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse et le poids larvaire et Jata × Daba en F1 pour le poids de la coque, la richesse soyeuse et la durée larvaire. Jata × Daba en F1 avec une combinaison de poids nymphal élevé × poids de coque élevé enregistre une hétérobeltiliose pour la fécondité ainsi que pour le poids nymphal, le poids de la coque et la richesse soyeuse. La combinaison F1 de Jata × Daba avec un poids de coque élevé × poids de coque élevé enregistre une hétérobeltiliose pour tous les caractères du cocon, comme le poids du cocon, le poids de la nymphe et de la coque et la richesse soyeuse en plus du poids larvaire. Les parents Jata, Raily et Daba dans les combinaisons hybrides donnent une hétérobeltiliose positive pour les caractères du cocon sauf pour l'ERR et pour le rendement en cocons. Les combinaisons F1 spécifiques poids nymphal élevé × poids nymphal élevé et poids nymphal élevé × poids de coque élevé de Jata × Daba présentent une hétérobeltiliose élevée pour la fécondité, ainsi que les combinaisons F1 de poids de coque élevé × poids de coque élevé de Jata × Daba et de Raily × Daba pour le poids de la coque et la richesse soyeuse. Cela signifie que Jata × Daba et Raily × Daba en F1 en combinaison avec les caractères désirés ont le potentiel de donner des hybrides à rendement élevé et la possibilité de donner des lignées spécifiques pour améliorer la fécondité et le poids de la coque.

INTRODUCTION

Un rendement optimal et un coût de production efficace sont essentiels pour la viabilité de n'importe quelle industrie. Le rendement en cocons chez le ver à soie tassar *Antheraea mylita* est faible et dépend principalement de la fécondité, de l'éclosion, du taux efficace d'élevage (ERR), du poids du cocon et de la teneur en soie. Les études précédentes sur l'hybride F1 en sériciculture ont montré une hétérosis et une hétérobeltiliose pour les caractères économiques (Sengupta et coll., 1987), qui est l'expression de l'interaction entre les facteurs contributeurs (Ajit kumar sinha et coll., 1995 ; Sinha et coll., 2001 ; Sinha et Srivastava, 2004). Le choix de parents génétiquement divergents est d'une importance vitale dans le lignage pour mettre au point de meilleures variétés (Jain et coll., 1981) et la plupart des paramètres quantitatifs sont très héréditaires et donc très utiles pour le lignage chez le ver à soie (Sen et coll., 1976 ; Suryanarayana et coll., 1987 ; Siddiqui et coll., 1988). Les variations des écoraces même après plusieurs générations indiquent leur divergence génétique et Raily et Modal différent de Daba pour de nombreux paramètres (Srivastava et coll., 2001). On a signalé une hétérosis maximum de 136,8 % pour le rendement absolu en soie chez le croisement GF3 × N1 (Sinha et coll., 1998), une bonne capacité combinatoire générale pour la fécondité, l'ERR et un rendement absolu en soie chez N1 et N2 (Sinha et coll., 1994) et on enregistre plus de 100 % d'hétérosis par rapport à

* Email: dr.manohar1959@rediffmail.com

la valeur du parent moyen chez GF3 $\times$ N1 et GE1 $\times$ N1 (Sinha et coll., 1998). Dans le lignage, on est très préoccupé par la sélection de cocons / de nymphes plus grosses, qui pondent plus d'œufs (Ravindra Singh et coll., 1994). Daba $\times$ Modal et Raily $\times$ Laria présentent une hétérosis élevée pour la fécondité, l'éclosion et les caractères contribuant au rendement (Naqvi et coll., 2004). A l'heure actuelle, seules deux eco-races semi-domestiques Daba et Sukinda contribuent à la production principale de cocons tassar tropicaux en Inde et l'utilisation de la vigueur hybride et de l'hétérobeltiose dans l'élevage du tassar est essentielle. Dans cette étude, deux écoraces sauvages Jata (Orissa) et Raily (Chhattisgarh) et une écorace semi-domestique Daba ont donc été utilisées pour élever et évaluer les hybrides F1.

MATERIELS ET METHODES

On élève simultanément les huit (8) hybrides F1 (deux généraux et six spécifiques) en utilisant les écoraces sauvages Jata et Raily et l'écorace semi-domestique Daba avec les parents selon une conception aléatoire en blocs, avec trois répétitions de chaque, pour les élevages de grainage (juil – août) sur la plantation économique de *Terminalia tomentosa* au laboratoire de terrain du *Central Tassar Research & Training Institute*, de Piska Nagri, à Ranchi. On considère les larves d'une ponte saine pour chaque croisement ainsi que pour les parents comme une répétition et on enregistre les observations de manière aléatoire avec des tailles égales d'échantillons pour la fécondité (FEC), le pourcentage d'éclosion, (HAT), le poids larvaire (LRW), la durée larvaire (LRD), le taux effectif d'élevage (ERR), le rendement en cocons (YLD), le poids d'un cocon (SCW), le poids nymphal (SPW), le poids d'une coque (SSW), et le pourcentage de richesse soyeuse (SR %). Pour étudier la performance d'un hybride par rapport à la fécondité et à la richesse soyeuse, on réalise six (6) combinaisons spécifiques sur la base d'un poids nymphal élevé $\times$ poids nymphal élevé en tant que (P $\times$ P), poids nymphal élevé $\times$ poids de coque élevé en tant que (P $\times$ S) et poids de coque élevé $\times$ poids de coque élevé en tant que (S $\times$ S). On soumet les données enregistrées pour différents paramètres à l'analyse statistique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données sur les parents (Tableau I) indiquent une divergence pour la mue, la fécondité, les plantes hôtes, les caractères du cocon et les paramètres de dévidage des écoraces Jata, Raily et Daba, qui proviennent de différentes zones écogéographiques du pays, c'est-à-dire de l'Orissa, de Chhattisgarh et de Jharkhand. Les deux races sauvages, c'est-à-dire Jata et Raily sont supérieures pour tous les caractères commerciaux du cocon, par rapport à Daba qui est semi-domestiquée, sauf pour le rendement en cocons. La combinaison de meilleurs caractères parentaux et leur exploitation par l'hétérosis en F1 est vitale pour optimiser la production de soie et les profits dans l'élevage commercial du tassar.

L'ANOVA (Tableau II) présente une variation significative de la somme des carrés moyens pour tous les paramètres à l'exception du poids larvaire parmi les parents, à l'exception du poids nymphal parmi les hybrides et à l'exception de la fécondité, du poids larvaire et des poids du cocon et de la nymphe parmi les parents par rapport aux hybrides. Cela indique l'existence d'une diversité génétique entre les parents et une réponse hétérotique et hétérobeltiotique positive potentielle par rapport aux caractères des graines, des larves et du cocon.

Les données sur la récolte de grainage (Tableau III) montrent que la combinaison Jata $\times$ Daba F1 enregistre une hétérosis et une hétérobeltiose pour le poids de la coque, la richesse soyeuse, le poids du cocon, le poids de la larve et la durée larvaire. La combinaison Raily $\times$ Daba en F1 présente de meilleures hétérosis et hétérobeltiose pour le poids de la coque, la richesse soyeuse, le poids du cocon, le poids nymphal et le poids larvaire. Cependant, l'ERR (taux effectif d'élevage) et le rendement en cocons donnent une hétérosis et une hétérobeltiose négatives pour toutes les combinaisons hybrides générales et spécifiques en F1. Parmi les combinaisons F1 spécifiques, Jata $\times$ Daba (P $\times$ S) enregistre

une hétérosis et une hétérobeliose positives pour tous les paramètres sauf pour l'éclosion, tandis que la même combinaison des écoraces Raily $\times$ Daba est positive seulement pour l'éclosion et la durée larvaire. La combinaison F1 Jata $\times$ Daba (P $\times$ P) enregistre une hétérosis et une hétérobeliose significatives pour la fécondité et elles sont marginales pour le poids de la larve, la durée larvaire, le poids de la coque, le poids nymphal et la richesse soyeuse et la même combinaison Raily $\times$ Daba ne présente une meilleure hétérobeliose que pour l'éclosion et la durée larvaire. La combinaison F1 Jata $\times$ Daba (S $\times$ S) enregistre de meilleures hétérosis et hétérobeliose pour tous les caractères, sauf pour la fécondité, tandis qu'elles sont marginales pour l'éclosion. La combinaison Jata $\times$ Daba [S $\times$ S] enregistre de meilleures hétérosis et hétérobeliose pour l'éclosion, le poids de la coque, la richesse soyeuse, tandis qu'elles sont marginales pour la durée et le poids larvaires. Le filage précoce des cocons par les larves, c'est-à-dire la diminution de la durée larvaire est un avantage dans l'élevage du tasar et pour cette raison, l'hétérobeliose est dominante par rapport à l'hétérosis pour une durée larvaire plus courte (MPH > BPH), ce qui est l'inverse pour les autres paramètres contribuant au rendement (MPH < BPH).

On peut mesurer le degré d'hétérosis par comparaison à la moyenne des deux parents, c'est-à-dire par rapport au parent moyen, ou MPH et par rapport à la moyenne du meilleur parent ou BPH. Cependant, l'utilisation commerciale de l'hétérosis se base seulement sur le dépassement du meilleur parent, c'est-à-dire sur l'hétérobeliose, sur laquelle on a mis l'accent dans cette expérience. Les hybrides F1 généraux avec des parents sauvage et semi-domestiqué, c'est-à-dire Jata $\times$ Daba et Raily $\times$ Daba présentent une hétérobeliose pour les caractères de la larve et du cocon dans la direction désirée. Les études précédentes de Jolly et coll., (1969) et de Bardiayar et coll., (1975) ont révélé une très faible hétérosis, tandis que Sengupta et coll., (1987), Suryanarayana et coll., (1987), Siddiqui (1997) et Navqui et coll., (2004) ont signalé une hétérosis et une hétérobeliose significatives pour plusieurs caractères économiques chez *Antheraea mylitta* D. Falconer (1985) a signalé que l'hétérosis est la fonction de l'effet de dominance et de la distance génétique entre les parents. Dans cette étude, les parents proviennent de différentes zones écogéographiques avec une variabilité considérable de leurs caractères phénotypiques et commerciaux et leur diversité génétique s'avère donc être la raison impérative qui explique la meilleure hétérobeliose pour les caractères de la larve et du cocon. Cependant, les tendances négatives pour l'ERR et pour le rendement en cocons pourraient être dues à une interaction non allélique, qui peut soit augmenter ou diminuer l'expression de l'hétérosis. Cela pourrait être dû en partie à l'hétérosis négative pour la fécondité et l'éclosion ajoutée à l'influence de l'environnement, de la qualité de la feuille, des prédateurs, etc...

La meilleure hétérobeliose positive pour la fécondité dans les combinaisons F1 avec poids nymphal élevé $\times$ poids nymphal élevé de Jata $\times$ Daba (P $\times$ P) et poids nymphal élevé $\times$ poids de coque élevé de Jata $\times$ Daba (P $\times$ S) pourrait être due à la capacité de combinaison spécifique pour la fécondité et cette observation est en accord avec les résultats de Sengupta et coll., (1987), de Siddiqui, (1997) et de Naqvi et coll., (2004). Shaheen et coll., (1992) et Ravindra Singh et coll., (1994) ont signalé une corrélation positive entre le poids nymphal et la fécondité et ceci est important dans le concept du lignage. Les combinaisons spécifiques F1 de Jata $\times$ Daba (S $\times$ S) et de Raily $\times$ Daba (S $\times$ S) présentent aussi une hétérosis et une hétérobeliose positives pour le poids de la coque, la richesse soyeuse, en plus de l'éclosion et des caractères larvaires, ce qui indique l'influence des parents avec un poids de coque élevé pour la manifestation de l'hétérobeliose pour le poids de la coque et pour la richesse soyeuse.

L'expression d'une hétérosis et d'une hétérobeliose parmi les combinaisons hybrides F1 spécifiques pourrait être due à l'implication des parents spécifiques

Les parents Jata, Raily et Daba ont la meilleure capacité combinatoire chez les hybrides F1 et témoignent d'une hétérosis et d'une hétérobeliose positives pour le poids larvaire, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse. Les combinaisons F1 spécifiques comme Jata $\times$ Daba (P $\times$ P), (P $\times$ S) indiquent une bonne capacité combinatoire pour la fécondité avec une hétérobeliose positive et Jata $\times$ Daba (S $\times$ S) et Raily $\times$ Daba (S $\times$ S) présentent une hétérobeliose positive pour le poids de la coque et pour la richesse soyeuse, ce qui indique une meilleure capacité

combinatoire pour le poids de la coque. Cela signifie que les F1 de Jata × Daba et de Raily × Daba en combinaison avec les caractères désirés ouvrent des perspectives pour obtenir des hybrides à rendement élevé et permettre de mettre au point des lignées spécifiques pour améliorer la fécondité et le poids de la coque.

SURVEY OF GUT MICROFLORA OF SELECT INDIAN MULTIVOLTINE AND BIVOLTINE BREEDS OF SILKWORM *BOMBYX MORI* L.

P. MOHANRAJ*, S. SUBRAMANIAN & M. MUTHUSWAMI

Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, India.

Studies have been conducted on isolation and characterization of gut micro flora from select Indian multivoltine and bivoltine silkworm breeds. Among the pure races, the bivoltine pure race CSR2 recorded a significantly higher gut bacterial (2.84×10^7 cfug⁻¹) and actinomycetes (4.3×10^6 cfug⁻¹) population than the multivoltine race, Pure Mysore. Among the nine multi × bivoltine cross breeds evaluated, PM × CSR2 recorded, significantly the highest bacterial load of (2.74×10^7 cfug⁻¹) and actinomycetes load of 2.3×10^6 cfug⁻¹. Studies on localization and distribution of microflora in the gut showed that hind gut region of silkworm breeds PM and CSR2 recorded higher bacterial (1.3×10^6 cfug⁻¹) and actinomycetes (2.6×10^6 cfu g⁻¹) population than that of other regions of gut. With regard to the growth stages of silkworm, the microflora load was in the order of fifth > fourth > third instar.

Keywords: Silkworm, Indian breeds, Gut microflora, *Bombyx mori*, bacteria, Actinomycetes

INTRODUCTION

The role of normal intestinal microflora is well established in several organisms including insects. Characterization of diverse group of microbes from insects revealed the multifaceted role played by gut microbes including nutritional contribution, conferring colonization resistance to invading pathogens, synthesis of antibiotics and association with multitrophic interaction through biosynthesis of semio-chemicals (Dillon and Dillon, 2004). The role of gut micro flora in specific orders of insects viz, Isoptera, Coleoptera, Orthoptera and Dictyoptera have been elaborated to a greater extent by several workers (Brooks, 1963; Buchner, 1965; Lysenko, 1983; and Tanada & Kaya, 1993). The simple digestive tract of Lepidoptera without any specialized anatomical features was considered to support limited microflora. However, quite a good amount of studies have thrown light on the diverse microflora of Lepidopterans like silkworm, *Bombyx mori* (Itaya, 1953), Wax moth, *Galleria mellonella* (Gabriel, 1959), Tussock moth, *Lymantria dispar* (Kodama and Naksuji, 1971; Broderick et al., 2004), variegated cutworm, *Peridroma saucia* (Armstrong et al. 1989), *Spodoptera littoralis* (Jarrett and Stephenson, 1990), mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* (Takahashi, 1995), Oak tasar silkworm, *Polessian tassar* (Kozyritskaya et al. 1998), Tea tortrix, *Homona magnanima* (Takatsuki and Kunimi, 2000), Pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Kuzima et al. 2002) and cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Mishra and Tandon, 2003).

Silkworm, *Bombyx mori* was considered to have limited or negligible gut microflora owing to higher alkaline pH (Itaya, 1953) or due to some antibiotic factors present in the gut juice. Masera (1954) in a study on silkworm reported that 43 per cent of larvae as sterile and 57 per cent harboured a few species of bacteria and fungi. Ghosh (1962) found out four species of *Micrococcus* from the healthy silkworm guts of some indigenous breeds from Berhampur. Brooks (1963) reported natural bacterial flora in the guts of several insects including silkworm. Steinhaus (1963) isolated a few

* Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore.

species of bacterial flora from the guts of healthy silkworm. Katiyar and Pant (1989) isolated the gut microflora of eri silkworm, *Philosamia ricini* and speculated its role on cellulase synthesis.

Kalpana *et al.* (1995) studied the quantitative and qualitative changes of bacterial flora associated with silkworm cross breed, PM × NB4D2 during different growth stages. Neelu Nangia *et al.* (1999) isolated five species of bacteria from silkworm gut; of which four belonged to the genus *Micrococcus* and one to *Staphylococcus*. The gut microflora had earlier been surveyed in several Indian silkworm breeds viz., Pure Mysore, Nistid Yellow, Nistari, Nismo White, NB4D2, PM × NB4 D2.

Taking cue from the earlier works on silkworm gut microflora, the present study was undertaken to enumerate the gut microflora of popular Indian silkworm breeds. The present work also outlines the localization, distribution and abundance of gut microflora in specific regions of gut during the growth stages of silkworm.

MATERIALS AND METHODS

Maintenance of silkworm breeds:

Gut microflora of select pure races viz., Pure Mysore (multivoltine) and CSR 2 (bivoltine); cross breeds viz., PM × CSR 2, BL43 × NB4D2, BI24 × NB4D2, MY1 × NB4D2, P2D1 × NB4D2, APM1 × APS 8, APM2 × APS12, APM3 × APS12, APM2 × MVT were enumerated in the present study. Healthy mulberry leaves of variety V1 were fed to the silkworm breeds obtained from disease free layings. The silkworm breeds were grown in rearing room under hygienic conditions with optimum temperature (25-28°C) and relative humidity (60-70%). The mulberry leaves were washed thoroughly in running water, shade dried and both sides of leaves were surface sterilized under UV light before given as feed to silkworms. The leaf feeding was given 3-4 times a day after hatching.

Isolation of gut microflora:

Two day old healthy fifth instar larvae were selected and kept under starvation for 4-6 hours for isolation of gut microflora. The larvae were surface sterilized with alcohol and dissection was carried out under aseptic conditions. After extraction, the guts were homogenized in 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0), washed three times with glutaraldehyde-free phosphate buffer and then transferred to vials. The vials were stored at 5°C until further use (Breznak and Pankratz, 1977). Spread plate technique (Robert, 1967) was followed to enumerate microbial population in the gut. The media used for isolation of bacteria and actinomycetes include Nutrient agar (Beef Extract 3.0 g, Peptone 5.0 g, Sodium Chloride 8.0 g, Agar 15.0 g) and Starch agar, Starch 20.0g, Agar 16.0g, Na₂CO₃ 10.0 g, Peptone 6.0g, Yeast extract 3.0g, K₂HP0₄ 1.0g, MgSO₄ 0.2g, MnSO₄ 40.0mg (Aneja, 2001).

Gut microflora in different instars:

Gut microflora was enumerated in third, fourth and fifth instars of pure races viz., Pure Mysore and CSR 2. Extraction of the gut and enumeration of microflora were done as described earlier.

Localization of gut microflora:

Laboratory reared fifth instar larvae of silkworm were surface sterilized by 90% alcohol. The larvae were dissected under aseptic conditions in a laminar flow to remove the fore, mid and hind gut portions separately and suspended in 100 ml water blank. Isolation and enumeration of the microbes from respective regions of gut were done by following the procedures described above.

Statistical analysis:

The data were analysed using Student's 't' test (for Comparison of paired means) and analysis of variance (ANOVA) test. Duncan's multiple range test was also used for comparing treatment means.

RESULTS

Comparative gut microflora in multivoltine and bivoltine pure races of silkworm:

Gut microflora enumerated from pure races viz., Pure Mysore and CSR2 are presented in Table I. Perusal of the data suggests that there was a striking difference in gut microflora load of multi and bivoltine pure races. The guts of CSR2 recorded a significantly higher load of bacteria (2.84×10^7 cfug⁻¹), and actinomycetes (4.3×10^2 cfug⁻¹) than that of Pure Mysore. Of the total enumerated microflora, bacteria were found to be the dominant group of microbes for both of the races evaluated.

Enumeration of bacteria and actinomycetes from crossbreeds:

The microbial populations from nine cross breeds were enumerated individually for bacteria and actinomycetes (Table II). Among the cross breeds, PM $\times$ CSR 2 recorded significantly the highest population of bacteria (2.74×10^7 cfug⁻¹) and actinomycetes (2.3×10^2 cfug⁻¹). There was no striking difference among other cross breeds *vis-à-vis* their gut bacterial load. Regarding gut actinomycetes population, PM $\times$ CSR2 and P2D1 $\times$ NB4D2 were on par followed by APM1 $\times$ APS8. The gut actinomycete population of other breeds was significantly lower than that of these breeds. No actinomycetes could be deduced from the gut of MY1 $\times$ NB4D2 in the present study.

Table I. Enumeration of bacteria and actinomycetes from pure races of silkworm.**Tableau I. Énumération des bactéries et des actinomycètes chez les races pures du ver à soie.**

Races	Enumeration of gut microflora	
	Énumération de la microflore de l'intestin	
	Bacteria	Actinomycetes
	Bactéries ($\times 10^7$ cfu g ⁻¹)	Actinomycètes ($\times 10^2$ cfu g ⁻¹)
Pure Mysore	2.62 $\pm$ 0.18 b	2.8 $\pm$ 0.16 b
CSR 2	2.84 $\pm$ 0.22 a *	4.3 $\pm$ 0.32 a

Values are mean of 5 observations / Les valeurs sont la moyenne de 5 observations ; $\pm$ Standard deviation / Ecart type.

Student 't' test was used for comparison of means / On utilise le test "t" de Student pour la comparaison des moyennes.

Means followed by same letter are not statistically different at $p = 0.05$ / Les moyennes que suivent les mêmes lettres ne sont pas différentes sur le plan statistique à $p = 0.05$.

Table II. Enumeration of bacteria and actinomycetes from Cross breeds.

Tableau II. Énumération des bactéries et des actinomycètes chez les hybrides.

Cross breeds	Enumeration of gut microflora	
	Énumération de la microflore de l'intestin	
	Bacteria	Actinomycetes
	Bactéries	Actinomycètes
Hybrides	($\times 10^7$ cfu g ⁻¹)	($\times 10^4$ cfu g ⁻¹)
PM $\times$ CSR2	2.74 $\pm$ 0.18 a	2.3 $\pm$ 0.16 a
BL43 $\times$ NB4D2	2.43 $\pm$ 0.22 b	1.0 $\pm$ 0.16 c
BL24 $\times$ NB4D2	2.43 $\pm$ 0.22 b	1.0 $\pm$ 0.12 c
MY1 $\times$ NB4D2	2.42 $\pm$ 0.18 b	*
P2D1 $\times$ NB4D2	2.45 $\pm$ 0.26 b	2.0 $\pm$ 0.14 a
APM1 $\times$ APS8	2.35 $\pm$ 0.24 b	1.4 $\pm$ 0.12 b
APM2 $\times$ APS12	2.44 $\pm$ 0.22 b	1.1 $\pm$ 0.22 c
APM3 $\times$ APS12	2.32 $\pm$ 0.24 b	1.0 $\pm$ 0.16 c
APM2 $\times$ MVT	2.32 $\pm$ 0.20 b	1.0 $\pm$ 0.08 c
CD at 5%	0.27	0.30

*No actinomycetes population detected. / Aucune population d'actinomycètes détectée.

Values are mean of 5 observations / Les valeurs sont la moyenne de 5 observations;

$\pm$ Standard deviation / Ecart type.

Means followed by same letter are not statistically different at $p = 0.05$ / Les moyennes que suivent la même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de $p = 0.05$.

Localization of gut microflora:

Population of microflora in different gut regions was enumerated in two pure races viz., PM and CSR2 (Table III). The recorded results show that distinctly the highest population of bacteria (1.33×10^6 cfu g⁻¹) and actinomycetes (2.6×10^2 cfu g⁻¹) were enumerated in the hind gut region followed by mid and fore gut regions of Pure Mysore. Similar trend was observed in CSR2 with the hind gut region recording significantly higher microbial load of bacteria (1.38×10^6 cfu g⁻¹) and actinomycetes (2.8×10^2 cfu g⁻¹). The foregut region recorded significantly lower bacterial counts than that of mid and hind gut regions for either of the races evaluated. No actinomycetes could be deduced from foregut region of both the races. It could be inferred that bulk of the gut microflora was localized in the hindgut region of the surveyed silkworm breeds.

Gut microflora in different growth stages of silkworm:

The gut microbial population was enumerated in third, fourth and fifth instars of silkworm races, Pure Mysore and CSR2 (Table IV). Perusal of the data shows that the significantly higher gut bacterial populations were enumerated in the fifth instar followed by the fourth and third instar stages of Pure Mysore. The gut bacterial population in the race CSR2 was to the tune of 2.62×10^7 cfug⁻¹ during the fifth instar followed by the fourth instar (2.15×10^7 cfug⁻¹) which were however on par but significantly higher than that of the third instar. Regarding gut actinomycetes population, a distinctly higher number could be noticed in the fifth instar than in other growth stages of larvae.

Table III. Localization of gut microflora.

Tableau III. Localisation de la microflore de l'intestin.

Silkworm races		Enumeration of gut microflora	
		Énumération de la microflore de l'intestin	
	Gut region	Bacteria ($\times 10^6$ cfu g ⁻¹)	Actinomycetes
Races de ver à soie	Zone de l'intestin	Bactéries ($\times 10^6$ cfu g ⁻¹)	($\times 10^2$ cfu g ⁻¹)
PM	Fore gut / Intestin antérieur	4.4 $\pm$ 0.32 c	
	Mid gut / Intestin moyen	7.3 $\pm$ 0.42 b	1.6 $\pm$ 0.22 b
	Hind gut / Intestin postérieur	13.3 $\pm$ 0.28 a	2.6 $\pm$ 0.12 a
	CD at 5%	0.26	0.26
CSR 2	Fore gut / Intestin antérieur	4.7 $\pm$ 0.22 c	
	Mid gut / Intestin moyen	7.4 $\pm$ 0.46 b	1.6 $\pm$ 0.44 b
	Hind gut / Intestin postérieur	13.8 $\pm$ 0.42 a	2.8 $\pm$ 0.23 a
	CD at 5%	0.24	0.27

Values are mean of 5 observations / Les valeurs sont la moyenne de 5 observations ; $\pm$ Standard deviation / Ecart type

Means followed by same letters are not statistically different at $p = 0.05$ / Les moyennes que suivent la même lettre ne sont pas différentes sur le plan statistique à $p = 0.05$.

Table IV. Gut micro flora in different growth instars of silkworm.

Tableau IV. Microflore de l'intestin pendant les différents âges du ver à soie.

Instars		Enumeration of gut microflora	
Age		Énumération de la microflore de l'intestin	
		Bacteria ($\times 10^7$ cfu g ⁻¹)	Actinomycetes ($\times 10^2$ cfu g ⁻¹)
		PM	CSR 2
III		1.20 $\pm$ 0.12 2b	1.32 $\pm$ 0.14 1b
IV		1.72 $\pm$ 0.42 2b	2.15 $\pm$ 0.22 1a
V		2.53 $\pm$ 0.22 2a	2.62 $\pm$ 0.26 1a
CD at 5%		0.11	0.14
		PM	CSR 2
		1.22 $\pm$ 0.32 2b	1.92 $\pm$ 0.12 1c
		2.6 $\pm$ 0.18 2a	3.4 $\pm$ 0.16 1b
		2.8 $\pm$ 0.36 2a	4.4 $\pm$ 0.40 1a
		0.10	0.23

Values are mean of 5 observations / Les valeurs sont la moyenne de 5 observations ; $\pm$ Standard deviation / Ecart type.

The mean followed by same letter and numbers are not statistically different at $P = 0.05$ / Les moyennes que suivent les mêmes lettre et nombres ne sont pas statistiquement différentes au seuil de $P = 0.05$.

Numbers indicate comparison of races; letter show comparison of instars / Les nombres indiquent la comparaison des races, la lettre montre la comparaison des âges.

Studies on diversity of gut microflora:

Based on consistent observations on enumeration of gut microflora from indigenous silkworm breeds, it was found that 80-90 % was constituted by bacteria, the fungi accounted for 7-17% and the rest (3%) was constituted by actinomycetes. Based on the colony morphology, the gut bacteria could be distinguished as 59 per cent belonging to rod forms of different sizes, 15% were coccus forms and 6% were coliforms.

DISCUSSION**Enumeration of gut microflora from pure races of silkworm:**

Prior to isolation of gut microflora, the larvae were starved for about 6 h to clear the food content an alimentary canal as well as to ensure multiplication of indigenous gut microbiota. Dillon (2000) reported that starved insects develop a larger population of gut bacteria than fed insects. Enumeration of gut microflora from pure races revealed that bivoltine breed CSR2 recorded significantly higher load of bacteria and actinomycetes than that of multivoltine breed, Pure Mysore. These results are in line with the findings of Neelu Nangia *et al.* (1999) who had reported that bivoltine breed NB4D2 harboured higher load of bacteria (16.5×10^4 cfu g⁻¹) in comparison to Pure Mysore and PM $\times$ NB4D2. Their studies also brought out the fact that bacteria were dominant microflora in the gut of silkworm breeds. The highest gut bacterial load of bivoltine breed may be attributed to robust size and higher feeding potential of bivoltine breeds in general and the niche available for microbial colonization.

Some early workers opined that the limited microflora may not be able to play a dominant role in the alimentary physiology of silkworm. Takahashi (1955) speculated the role of certain actinomycetes in the synthesis of vitamin B12 by the silkworm. Considering the role of gut microflora in the nutrition of several species of insects, it is probable that higher load of gut bacteria and actinomycetes in bivoltine load, play a certain role in growth and development of silkworm. It is to be explored whether the higher feeding potential and food utilization of bivoltine breeds in general may be attributed to their association with the gut actinomycetes.

Enumeration of gut microflora from cross breeds:

Among the cross breeds, PM $\times$ CSR2 recorded significantly the highest gut bacteria and actinomycetes. In this study, it was inferred that bacteria were the dominant gut microflora and it is in consonant with that of earlier reports (Kalpana *et al.*, 1995; Neelu Nangia *et al.*, 1999). The relative difference in gut microflora load among the cross breeds can be attributed to their genetic difference and their feeding potential as well as to the availability of suitable niche for proliferation of gut microflora. Among the cross breeds evaluated, MY1 $\times$ NB4D2 was not found to harbour any actinomycetes population. It might be too low or negligible to be found by isolation and enumeration in the present study.

Localization of gut microflora:

Gut microflora was enumerated in the specific regions of the gut of PM and CSR2 races. The results have shown that hindgut harboured relatively the higher microbial population in these pure races (Table IV).

The alimentary system of many insect species provides a suitable niche for microflora and as such, some sections are more amenable for colonization of microbial communities (Hungate, 1975). Brune *et al.* (1995) reported that a large number of aerobic and anaerobic bacteria occur in the hind gut of insects. Hind guts of termites are considered as the smallest bioreactors owing to the presence of a large number of microbial community (Brune, 1998). The clear bulk of microbiota was housed in the hind gut of termites usually in the dilated portion of the proctodeum known as paunch which is a major site of nutrient absorption (O' Brien and Blaytor, 1982).

Prestia and Hirshfield (1988) reviewed in detail the relation between gut structure and microbial colonization. Insects with simple and straight digestive tract possess a less diverse microbiota

whereas, those with complex and specialized structures such as paunches, diverticula and caeca have a wide variety of microbiota. Considerable microflora population has been enumerated from the fore and mid gut regions of silkworm races in this present study. It may be probable that some of this microflora could be transient ones (Dillon, 2000).

The predominance of hind gut region in harbouring microbial population was elucidated in the study of gut bacterial flora of *H. armigera* by Mishra and Tandon (2003). Their study also brought to light the presence of considerable microbial population in the fore and midgut regions of *H. armigera*.

Scanning electron microscopy studies on the gut of termite species viz., *Procubitermes aburiensis* and *Cubitermes severus* have thrown light on the colonization of microbes in the hindgut of insects. The gut bacteria had found to have been intimately associated with the cuticular linings particularly at the bottom folds on the ileum and between the rectal pads. This protected niche afforded a greater survival value to microbes. Bignell *et al.* (1979) reported the association of gut bacteria with epithelial line of hindgut of *Migratoria locusta*. It is to be explored whether such niches exist in the hind gut of silkworms too.

Gut micro flora in different growth stages of silkworm:

The results of gut microflora enumerated in third, fourth and fifth instars of silkworm are presented (Table IV). Significantly higher gut bacterial load was enumerated from the fifth instar followed by the fourth and third instars of silkworm races PM and CSR2. The gut bacterial population was ranging from 1.21 to 2.53×10^7 cfug⁻¹ in third to fifth instar of PM and the values were 1.32 to 2.62×10^7 cfug⁻¹ for CSR2.

Kalpna *et al.* (1995) reported the presence of significantly higher gut bacterial population in the fourth and the fifth instar silkworm larvae of PM $\times$ NB4D2 with the highest mean gut bacterial load of 1.3×10^7 cfug⁻¹ in the late fifth instar larvae. Mishra and Tandon (2003) reported the gut bacterial populations of 2.66×10^4 cfug⁻¹, 5.4×10^5 cfug⁻¹ and 1.66×10^6 cfu/g⁻¹ respectively from fore, mid and hindgut regions of the third instar larvae of *H. armigera*.

There are two distinct growth phases in silkworm life cycle comprising of early and late instars. The feeding potential and growth of the late instars are phenomenally higher. It is an established fact that gut flora act as microbial brokers enabling digestion and absorption in phytophagous insects (Jones, 1984). Hence it may be probable that the higher gut microflora population may account for higher feeding potential, growth and development of late instar larvae of silkworm. Significantly higher gut microflora populations of later instars could complement the nutritional requirement of growing insects, as they are required for synthesis of vitamins and secondary metabolites (Takahashi, 1955). Specific gnotobiotic studies are required to ascertain the nutritional role of gut microflora in the late age worm of silkworms.

CONCLUSION

Studies on the gut micro flora of select popular cross breeds and bivoltine hybrids have thrown light on the distribution pattern of different gut microbes. Comparatively higher abundance of microflora in bivoltine hybrids may probably account for higher feeding and growth potential of these hybrids. Significantly higher loads of gut microbes and especially the presence of actinomycetes from the hindgut region of silkworm breed in the present study, deserves attention. It is also needed to take up exploratory studies on presence of specific niches for microbes in the silkworm. Further studies on functional role of actinomycetes in silkworm breeds, may provide new vistas.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to the authorities of TNAU for providing sufficient facilities during the study. The help rendered by Dr. Raghuchander and Dr. Siva Kumar and M/s Institute of Microbial

Technology, Chandigarh, India regarding identification of the gut bacteria is greatly acknowledged.

REFERENCES

- ANEJA K.A. (2001) Experiment in Microbiology, Plant Pathology, Tissue culture and Mushroom production technology. New age publishers, New Delhi. 768.
- ARMSTRONG J. L., PORTEOUS L. A., WOOD N. D. (1989) The cutworm *Peridroma saucia* (Lepidoptera: Noctuidae) supports growth and transport of pBR322-bearing bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2200-2205.
- BIGNELL D. E. (2001) Isolation of facultatively aerobic actinomycetes from the gut. FEMS Microbiol. Ecol. 85:151-60.
- BREZNAK J. A., PANKRATZ H. S. (1977) *In situ* morphology of the gut microbiota of wood-eating termites (*Reticulitermes flavipes* and *Coptotermes formosanus*). Appl. Environ. Microbiol. 406-426.
- BRODERICK A., RAFFA, F., GOODMAN M., HANDELSMAN J. (2004) Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture independent methods. Appl. Environ. Microbiol. 70:293-300.
- BROOKS M. A. (1963) The microorganisms of healthy insects. In *Insect Pathology: An Advanced Treatise*, (ed.) E.A Steinhaus, Academic Press, London, 215-18.
- BRUNE A. (1998) Termite guts; the world's smallest bioreactors. Trends Biotechnol., 16:16-21.
- BRUNE A., EMERSON D., BREZNAK J. A. (1995) The termites gut micro flora as an oxygen sink; microelectrode determination of oxygen and pH gradients in guts of lower and higher termites. Appl. Environ. Microbiol., 61: 2681-2687.
- BUCHNER P. (1965) Endosymbionts of animals with plant microorganism. Roeder.K. D. Ed, John Wiley & Sons, New York, 909.
- DILLON (2000) Re-assessment of the role of the insect gut microbiota. Abstract Book I – XXI-International Congress of Entomology, August 20-26, Brazil.
- DILLON R. J., DILLON V. M. (2004) The gut bacteria of insects: non pathogenic interactions. Ann. Rev. Entomol. 49: 71-92.
- GABRIEL B.P. 1959. Fungus infection of insects via the alimentary tract. J. Insect Pathol. 1: 319-330.
- GHOSH R. K. (1962) Studies on the normal alimentary flora of the silkworm larvae (*Bombyx mori* Linn.). Indian J. Seric. 16: 10-13.
- HUNGATE R. E. (1975) A study of the effect of tetracycline plus nystatin on aerobic fecal flora as compared to tetracycline alone. Anti-biot. Ann. 1956-1957: 221-227.
- HUNT J., CHARNLEY A.K. (1981) Abundance and distribution of the gut flora of the desert locust, *Schistocerca gregari*. J. Invertebr. Pathol. 38: 378-385.
- ITAYA M. (1953) Theoretical and experimental physiology of the silkworm in *Insect physiology* Roeder K.D.(Ed), John Wiley & Sons, New York, 1100.
- JARRETT P., STEPHENSON M. (1990) Plasmid transfer between strains of *Bacillus thuringiensis* infesting *Galleria mellonella* and *Spodoptera littoralis*. Appl. Environ. Microbiol. 56:1608-14.
- JONES C.G. (1984) Microorganisms as mediators of plant resources exploitation by insect herbivores. In: A New Ecology: Novel Approaches to Interactive Systems, (eds.) Price, P.W., Slobodchikoff, C.N. & Gaud, W.S.Wiley & Sons, New York, 53-99.
- KALPANA S., HATHA A. M., SWAMY L. P (1995) Gut micro flora of the larva of silkworm, *Bombyx mori*. Insect Science and its Application. 15: 4- 5 & 99- 502.
- KATIYAR S., PANT R. (1987) Source of cellulase in various gut segments of Eri-silkworm larvae (*Philosamia ricini* Hutt). Indian J.Seric 24: 90-92.
- KODAMA R., NAKASUJI Y. (1971) Further studies on the pathogenic mechanism of bacterial diseases in gnotobiotic silkworm larvae. IFO Res. Comm. 5: 1-9.
- KOZYRITSKAYA V.E., ARETINSKAYA T.B., BULAVINA O.I., KAREVA M.A. (1988) Species composition of *Streptomyces* isolated from the oaken silkworm *Polessian tassar*. *Mikrobiologichnyi Zhurnal* [MIKROBIOL. ZH.], 50: 36-39.

- KUZIMA L.V., MILLER E.D., GE B.X., MILLER T.A. (2002) Transformation of *Enterobacter gergoviae* isolated from pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) gut with *Bacillus thuringiensis* toxin. Curr. Microbiol. 44: 1-4.
- LYSENKO O. (1985) Non-spore forming bacteria pathogenic to insects: incidence and mechanisms. Ann. Rev. Microbiol. 39: 673-95.
- MASERA E. (1954) A study on silkworm larvae as sterile and a few species of bacteria and fungi. Agr. Venezie, Oct., 1-24.
- MISHRA P.K., TANDON S.M. (2003) Gut bacterial flora of *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae). Indian Journal of microbiology. 43: 55- 56.
- NEELU NANGIA V., ASHOK KUMAR B., NAGESHCHANDRA K. (1999) Gut microflora of healthy mulberry silkworm. Proceeding of National Symposium of Trends in Sericulture , Dept. of Sericulture, University of Agricultural science, Bangalore, 247-244.
- O'BRIEN R. W., BLAYTOR K. (1982) Microorganisms as mediators of plant resource exploitation by insect herbivores. In: A New Ecology- Novel approaches to interactive systems, (eds.) Price, P.W., Slobodchikoff, C.N. & Gaud, W.S. Wiley & Sons, New York, 53-99.
- PRESTIA T.C., HIRSHFIELD I. N. (1988) Isolation of Plasmid-Harboring *Serratia plymuthica* from Facultative Gut Microflora of the Tobacco Hornworm, *Manduca sexta* Appl Environ Microbiol. July; 54(7): 1855-1857.
- ROBERT P.H. (1967) Experimental Microbiology Laboratory Guide. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 51.
- STEINHAUS A. E. (1963) Insect Microbiology. Matner Publishing Company. New York and London, 31.
- TAKAHASHI K. (1955) Nutritional role in silkworm *Bombyx mori*. J. Agri. Chem Soc. Japan. 29: 711-715.
- TAKATSUKA J., KUNIMI Y. (2000) Intestinal bacteria affect growth of *Bacillus thuringiensis* in larvae of the oriental tea Tortrix, *Homona magnanima* Diakonoff (Lepidoptera: Tortricidae). J. Invertebr. Pathol. 76: 222-226.
- TANADA Y., KAYA H.K. (1993) "Insect Pathology," Academic Press, San Diego.

ETUDE SUR LA MICROFLORE DE L'INTESTIN DE LIGNÉES INDIENNES SUPÉRIEURES DU VER À SOIE *BOMBYX MORI* L. POLYVOLTINES ET BIVOLTINES

P. MOHANRAJ*, S. SUBRAMANIAN & M. MUTHUSWAMI

Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, Inde.

Des études ont été réalisées sur l'isolement et la caractérisation de la microflore de l'intestin de lignées de ver à soie supérieures polyvoltine et bivoltine Indiennes. Parmi les races pures, la race pure bivoltine CSR2 enregistre une population bactérienne ($2,84 \times 10^7$ cfug⁻¹) et d'actinomycètes ($4,3 \times 10^6$ cfug⁻¹) dans l'intestin significativement plus élevée que la race polyvoltine, Pure Mysore. Parmi les neuf hybrides multi × bi évalués, PM × CSR2 enregistre la charge bactérienne de ($2,74 \times 10^7$ cfug⁻¹) et la charge en actinomycètes de $2,3 \times 10^6$ cfug⁻¹ significativement les plus élevées. Les études sur la localisation et la distribution de la microflore dans l'intestin montrent que la zone de l'intestin postérieur des lignées de ver à soie PM et CSR2 enregistre les populations bactériennes ($1,3 \times 10^6$ cfug⁻¹) et d'actinomycètes ($2,6 \times 10^6$ cfug⁻¹) les plus élevées par rapport aux autres zones de l'intestin. En ce qui concerne les stades de croissance du ver à soie, la charge en microflores se classe dans l'ordre cinquième > quatrième > troisième âge.

INTRODUCTION

Le rôle de la microflore intestinale normale est reconnu chez plusieurs organismes y compris chez les insectes. La caractérisation de différents groupes de microbes chez les insectes a montré le rôle multiple que joue les microbes de l'intestin, y compris la contribution nutritionnelle, qui confère une résistance à la colonisation par les pathogènes envahissants, la synthèse des antibiotiques et l'association avec l'interaction multitrophique par la biosynthèse des semio - produits chimiques (Dillon et Dillon, 2004). Plusieurs chercheurs ont dans une grande mesure déterminé le rôle de la microflore de l'intestin chez des ordres spécifiques d'insectes, c'est-à-dire les Isoptères, les Coléoptères, les Orthoptères et les Dictyoptères (Brooks, 1963 ; Buchner, 1965 ; Lysenko, 1983 ; et Tanada & Kaya, 1993). On considère que le tube digestif simple des Lépidoptères, sans aucun caractère anatomique spécialisé, contient un nombre limité de microflores. Cependant, un assez grand nombre d'études a mis en lumière les différentes microflores des Lépidoptères, chez le ver à soie, *Bombyx mori* (Itaya, 1953), la teigne de la ruche, *Galleria mellonella* (Gabriel, 1959), le bombyx disparate, *Lymantria dispar* (Kodama et Naksugi, 1971 ; Broderick et coll., 2004), le ver gris, *Peridroma saucia* (Armstrong et coll., 1989), *Spodoptera littoralis* (Jarret et Stephenson, 1990), la pyrale du mûrier, *Glyphodes pyloalis*, (Takahashi, 1995), le ver à soie tassar du chêne, *Polessian tassar* (Kozyritskaya et coll., 1998), la tordeuse du thé, *Hormona magnanima* (Takatsuki et Kunimi, 2000), la noctuelle rose, *Pectinophora gossypiella* (Kuzima et coll., 2002) et la noctuelle de la capsule du cotonnier, *Helicoverpa armigera* (Mishra et Tandon, 2003).

On considère que le ver à soie, *Bombyx mori* a un nombre limité ou négligeable de microflore dans l'intestin à cause d'un pH alcalin plus élevé (Itaya, 1953) ou à cause de certains facteurs antibiotiques présents dans le liquide intestinal. Dans une étude sur le ver à soie, Masera (1954) a signalé 43 % de larves stériles et 57 % contenaient quelques espèces de bactéries et de champignons. Ghosh (1962) a trouvé quatre espèces de *Micrococcus* dans l'intestin sain de lignées indigènes de

* Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore.

Berhampur. Brookes (1963) a signalé une flore bactérienne dans l'intestin de plusieurs insectes y compris chez le ver à soie. Steinhaus (1963) a isolé quelques espèces de la flore bactérienne dans l'intestin du ver à soie sain. Katiyar et Pant (1989) ont isolé la microflore de l'intestin du ver à soie eri, *Philosomia ricini* et se sont interrogés sur son rôle dans la synthèse de la cellulase.

Kalpna et coll., (1995) ont étudié les changements quantitatifs et qualitatifs de la flore bactérienne associée avec l'hybride du ver à soie, PM × NB4D2 pendant les différents stades de croissance. Nelu Nangia et coll., (1999) ont isolé cinq espèces de bactéries de l'intestin du ver à soie, dont quatre appartiennent au genre *Micrococcus* et une au genre *Staphylococcus*. On a déjà étudié la microflore de l'intestin chez plusieurs lignées du ver à soie, en l'occurrence chez Pure Mysore, Nistid Yellow, Nistari, Nismo White, NB4D, PM × NB4D2.

En s'appuyant sur les recherches précédentes réalisées sur la microflore de l'intestin du ver à soie, nous avons entrepris cette étude afin d'énumérer la microflore de l'intestin chez les lignées de ver à soie populaires indiennes. Cette étude donne aussi un aperçu sur la localisation, la distribution et l'abondance de la microflore dans des zones spécifiques de l'intestin pendant les stades de croissance du ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

Maintien des lignées du ver à soie :

Dans cette étude, on a énuméré la microflore de l'intestin de races pures supérieures c'est-à-dire de Pure Mysore (polyvoltine) et CSR 2 (bivoltine) ; d'hybrides, c'est-à-dire PM × CSR2, BL43 × NB4D2, BL24 × NB4D2, MY1 × NB4D2, P2D1 × NB4D2, APM1 × APS 8, APM2 × APS12, APM3 × APS12, APM2 × MVT. On alimente les lignées de ver à soie, obtenues à partir de pontes saines, avec des feuilles de mûrier saines de la variété V1. On élève les lignées de ver à soie dans une pièce d'élevage dans des conditions hygiéniques avec une température optimum (25 – 28° C) et une humidité relative de 60 – 70 %. On lave les feuilles de mûrier soigneusement sous l'eau du robinet, on les sèche à l'ombre et on stérilise la surface des deux côtés des feuilles sous une lumière UV, avant d'en nourrir les vers. On nourrit les vers 3 à 4 fois par jour après l'éclosion.

Isolement de la microflore de l'intestin :

On sélectionne des larves saines du 5^{ème} âge âgées de 2 jours et on les affame pendant 4 à 6 heures pour l'isolement de la microflore de l'intestin. On stérilise la surface des larves avec de l'alcool et on procède à la dissection dans des conditions aseptiques. Après leur extraction, on homogénéise les intestins dans un tampon de phosphate de potassium à 0,1 M (pH 7,0), on les lave trois fois avec un tampon de phosphate sans glutaraldéhyde et on les transfère dans des flacons. On stocke les flacons à 5° C jusqu'à une utilisation ultérieure (Breznak et Pankratz, 1977). On suit la technique d'étalement des plaques (Robert, 1967) pour déterminer la population microbienne de l'intestin. Les milieux utilisés pour l'isolement des bactéries et des actinomycètes comprennent l'agar agar (Extrait de bœuf, 3,0 g ; Peptone 5 g ; Chlorure de sodium 8,0 g ; Agar 15, 0g) et l'agar d'amidon, amidon 20,0 g ; agar 16,0 g ; Na₂CO₃ 10,0 g ; Peptone 6,0 g ; extrait de levure 3,0 g ; K₂HP0₄ 1,0 g ; MgSO₄ 0,2 g ; MnSO₄ 40,0 mg (Aneja, 2001).

Microflore de l'intestin pendant les différents âges :

On énumère la microflore de l'intestin pendant les troisième, quatrième et cinquième âges chez les races pures, c'est-à-dire chez Pure Mysore et CSR2. On procède à l'extraction de l'intestin et à l'énumération de la microflore d'après la description précédente.

Localisation de la microflore de l'intestin :

On stérilise la surface de larves du 5^{ème} âge élevées en laboratoire avec de l'alcool à 90 %. On dissèque les larves dans des conditions aseptisées sous une hotte à flux laminaire pour enlever séparément l'intestin antérieur, l'intestin moyen et l'intestin postérieur et on les suspend dans 100 ml

d'eau. On procède à l'isolement et à l'énumération des microbes, dans les zones respectives de l'intestin, en suivant les procédures décrites plus haut.

Analyse statistique :

On analyse les données en utilisant le test « t » de Student (pour la comparaison des couples de moyennes) et l'analyse du test de variance (ANOVA). On utilise aussi le test multiple de Duncan pour comparer les moyennes des traitements.

RESULTATS

Comparaison de la microflore de l'intestin chez les races pures polyvoltines et bivoltines du ver à soie :

La microflore de l'intestin des races pures, c'est-à-dire chez Pure Mysore et CSR2 est présentée dans le Tableau I. L'observation des données suggère qu'il y a une différence frappante entre la charge en microflores des races pures polyvoltines et bivoltines. L'intestin de CSR2 enregistre la charge significativement la plus élevée en bactéries ($2,84 \times 10^7$ cfug⁻¹) et en actinomycètes ($4,3 \times 10^2$ cfug⁻¹) par rapport à Pure Mysore. Sur toute la microflore énumérée, les bactéries s'avèrent être le groupe dominant de microbes pour les deux races évaluées.

Enumération des bactéries et des actinomycètes des hybrides :

On énumère individuellement les populations microbiennes pour les bactéries et les actinomycètes de neuf hybrides (Tableau II). Parmi les hybrides, PM × CSR2 enregistre les populations de bactéries ($2,74 \times 10^7$ cfug⁻¹) et d'actinomycètes ($2,3 \times 10^2$ cfug⁻¹) significativement les plus élevées. Il n'y a pas de différence frappante entre les autres hybrides par rapport à leur charge en bactéries. En ce qui concerne la population en actinomycètes de l'intestin, PM × CSR2 et P2D1 × NB4D2 sont à égalité, suivis par APM1 × APS8. La population en actinomycètes de l'intestin des autres lignées est significativement plus faible que celle de ces lignées. Dans cette étude, on n'a pas trouvé d'actinomycètes dans l'intestin de MY1 × NB4D2.

Localisation de la microflore de l'intestin :

On a déterminé la population de la microflore dans différentes zones de l'intestin chez deux races pures, c'est-à-dire chez PM et CSR2 (Tableau III). Les résultats enregistrés montrent qu'on a la population la plus élevée en bactéries ($1,33 \times 10^6$ cfu g⁻¹) et en actinomycètes ($2,6 \times 10^2$ cfu g⁻¹) dans la zone de l'intestin postérieur, suivi par les zones de l'intestin moyen et antérieur de Pure Mysore. On observe une tendance similaire chez CSR2 avec la zone de l'intestin postérieur enregistrant la charge microbienne en bactéries ($1,38 \times 10^6$ cfu g⁻¹) et en actinomycètes ($2,8 \times 10^2$ cfu g⁻¹) significativement la plus élevée. La zone de l'intestin antérieur enregistre des comptes significativement plus faibles en bactéries que les zones de l'intestin médian et postérieur pour n'importe laquelle des races évaluées. On n'a pas pu trouver d'actinomycètes dans la zone de l'intestin antérieur chez les deux races. On peut en déduire que la plus grande partie de la microflore de l'intestin est localisée dans la zone de l'intestin postérieur chez les lignées de ver à soie étudiées.

Microflore de l'intestin à différents stades de croissance du ver à soie :

On a déterminé la population microbienne de l'intestin pendant le troisième, le quatrième et le cinquième âge chez les races de ver à soie, Pure Mysore et CSR2 (Tableau IV). L'observation des données montre qu'on a des populations bactériennes significativement plus élevées pendant le cinquième âge, suivi par les quatrième et troisième âges chez Pure Mysore. La population bactérienne de l'intestin de la race CSR2 est de l'ordre de $2,62 \times 10^7$ cfug⁻¹ pendant le 5^{ème} âge suivi par le 4^{ème} âge ($2,15 \times 10^7$ cfug⁻¹), qui ne sont cependant pas significativement différentes, mais significativement plus élevés que pendant le troisième âge. En ce qui concerne la population en

actinomycètes de l'intestin, on peut noter un nombre distinctement plus élevé pendant le 5^{ème} âge que pendant d'autres stades de croissance des larves.

Etudes sur la diversité de la microflore de l'intestin :

D'après les observations sur la microflore de l'intestin chez les lignées de ver à soie indigènes, il s'avère que 80 à 90 % sont constituées par des bactéries, les champignons représentent 7 à 17 % et le reste (3 %) est constitué par des actinomycètes. D'après la morphologie de la colonie, on peut observer que 59 % des bactéries appartiennent aux formes en bâtonnets de différentes tailles, 15 % ont des formes de coque et 6 % sont coliformes.

DISCUSSION

Enumération de la microflore de l'intestin chez les races pures du ver à soie :

Avant l'isolement de la microflore de l'intestin, on affame les larves pendant environ 6 h pour nettoyer le contenu en nourriture et le tube digestif ainsi que pour s'assurer de la multiplication de microbiotes indigènes de l'intestin. Dillon (2000) a signalé que les insectes affamés développent une population plus importante de bactéries dans l'intestin que les insectes nourris.

L'énumération de la microflore de l'intestin des races pures révèle que la lignée bivoltine CSR2 enregistre une charge significativement plus élevée en bactéries et en actinomycètes que la lignée polyvoltine, Pure Mysore. Ces résultats confirment les observations de Neelu Nagia et coll., (1999) qui ont signalé que la lignée bivoltine NB4D2 donne une charge plus élevée en bactéries ($16,5 \times 10^4$ cfu g⁻¹) par comparaison à Pure Mysore et PM $\times$ NB4D2. Leurs études ont aussi mis en évidence que les bactéries sont la microflore dominante dans l'intestin des lignées de vers à soie. La charge bactérienne plus élevée dans l'intestin de la lignée bivoltine pourrait venir de la taille robuste et du potentiel nutritionnel plus élevé des lignées bivoltines en général et de la niche disponible pour la colonisation microbienne.

Par le passé, certains chercheurs ont estimé que la microflore limitée pourrait ne pas être capable de jouer un rôle dominant dans la physiologie alimentaire du ver à soie. Takahashi (1955) s'est interrogé sur le rôle de certains actinomycètes dans la synthèse de la vitamine B12 par le ver à soie. Compte tenu du rôle de la microflore de l'intestin dans la nutrition de plusieurs espèces d'insectes, il est probable que la charge plus élevée en bactéries et en actinomycètes chez la lignée bivoltine, pourrait jouer un certain rôle dans la croissance et le développement du ver à soie. Il faudrait étudier si le potentiel nutritionnel et l'utilisation nutritionnelle plus élevés des lignées bivoltines, en général, pourraient être attribués à leur association avec les actinomycètes de l'intestin.

Enumération de la microflore de l'intestin des hybrides :

Parmi les hybrides, PM $\times$ CSR2 enregistre le nombre significativement le plus important de bactéries et d'actinomycètes. Dans cette étude, on a conclu que les bactéries sont les microflores dominantes de l'intestin et cela est en accord avec des rapports précédents (Kalpana et coll., 1995 ; Neelu Nangia et coll., 1999). Parmi les hybrides, on pourrait attribuer la différence relative de charge en microflore de l'intestin à leur différence génétique et à leur potentiel nutritionnel, ainsi qu'à la disponibilité d'un créneau propice pour la prolifération de la microflore de l'intestin. Parmi les hybrides évalués, MY1 $\times$ NB4D2 ne s'avère pas abriter de population d'actinomycètes. Dans cette étude, elle pourrait être trop faible ou négligeable pour la trouver par l'isolement et l'énumération.

Localisation de la microflore de l'intestin :

On a énuméré la microflore de l'intestin dans les zones spécifiques de l'intestin des races PM et CSR2. Les résultats montrent que l'intestin postérieur donne la population microbienne relativement la plus élevée chez ces races pures (Tableau IV).

Le système alimentaire de nombreuses espèces d'insectes apporte une niche adaptée pour la microflore et en tant que tel, certaines parties sont plus propices à la colonisation par les communautés

microbiennes (Hungate, 1975). Brune et coll., (1995) ont signalé qu'un grand nombre de bactéries aérobiques et anaérobiques sont présentes dans l'intestin postérieur des insectes. Les intestins postérieurs des termites sont considérés comme les plus petits bioréacteurs grâce à la présence d'une grande communauté microbienne (Brune, 1998). La plus grande partie des microbiotes est abritée dans l'intestin postérieur des termites en général dans la partie dilatée du proctodeum connu comme la panse, qui est un site majeur pour l'absorption des nutriments (O'Brien et Blaytor, 1982).

Prestia et Hirshfield (1988) ont passé en revue en détail la relation entre la structure de l'intestin et la colonisation microbienne. Les insectes avec un canal digestif simple et droit possèdent des microbiotes moins variés, tandis que ceux qui ont des structures complexes et spécialisées telles que les panses, les diverticules et les caeca ont une grande variété de microbiotes. Dans cette étude, on a énuméré une population considérable de microflore dans les zones de l'intestin antérieur et moyen chez les races de vers à soie. Il est probable que certaines de ces microflores soient éphémères (Dillon, 2000).

Dans leur étude de la flore bactérienne de l'intestin de *H. armigera* Mishra et Tandon (2003) ont fourni des explications sur la tendance de la zone de l'intestin postérieur à abriter une population microbienne. Leur étude a aussi mis en lumière la présence d'une population microbienne considérable dans les zones de l'intestin antérieur et moyen de *H. armigera*.

Les études de microscopie électronique à balayage sur l'intestin d'espèces de termites, en l'occurrence, *Proculitermes aburiensis* et *Cubitermes severus* ont mis en lumière la colonisation par les microbes dans l'intestin postérieur des insectes. Les bactéries de l'intestin s'avèrent être intimement associées avec les parois cuticulaires particulièrement dans les plis du bas de l'ileum et entre les coussins rectaux. Cette niche protectrice permet une plus grande survie des microbes. Bignell et coll., (1979) ont signalé l'association entre les bactéries de l'intestin et la paroi épithéliale de l'intestin postérieur de *Migratoria locusta*. Il faudrait explorer si de telles niches existent aussi dans l'intestin postérieur du ver à soie.

Microflore de l'intestin pendant différents stades de croissance du ver à soie :

Les résultats sur la microflore de l'intestin énumérée pendant les troisième, quatrième et cinquième âges du ver à soie sont présentés dans le Tableau IV. On énumère une charge en bactéries significativement plus élevée pendant le 5^{ème} âge, suivi par les quatrième et troisième âges chez les races de ver à soie PM et CSR2. La population bactérienne de l'intestin est comprise entre $1,21$ à $2,53 \times 10^7$ cfug⁻¹ du troisième au cinquième âge chez PM et les valeurs sont de $1,32$ à $2,62 \times 10^7$ cfug⁻¹ pour CSR2.

Kalpana et coll., (1995) ont signalé la présence d'une population bactérienne de l'intestin significativement plus élevée chez les larves du quatrième et cinquième âges de PM × NB4D2 avec la moyenne en charge bactérienne de l'intestin la plus élevée de $1,3 \times 10^7$ cfug⁻¹ chez les larves de la fin du 5^{ème} âge. Mishra et Tandon (2003) ont signalé des populations bactériennes de l'intestin de respectivement $2,66 \times 10^4$ cfug⁻¹, de $5,4 \times 10^5$ cfug⁻¹ et de $1,66 \times 10^6$ cfu / g⁻¹ dans les zones de l'intestin antérieur, moyen et postérieur chez les larves du 3^{ème} âge de *H. armigera*.

Il existe deux phases distinctes de croissance dans le cycle de vie du ver à soie comprenant les premiers et les derniers âges. Le potentiel nutritionnel et la croissance des derniers âges sont phénoménalement plus élevés. Il est reconnu que la flore de l'intestin agit comme des courtiers microbiens qui permettent la digestion et l'absorption chez les insectes phytophages (Jones, 1984). Il est donc probable que la population plus élevée en microflore de l'intestin soit responsable du potentiel nutritionnel, d'une croissance et d'un développement plus élevés chez les larves du ver à soie du dernier âge. Les populations de la microflore de l'intestin significativement plus élevées pendant les derniers âges pourraient compléter le besoin nutritionnel des insectes en cours de croissance, puisqu'elles sont nécessaires à la synthèse des vitamines et des métabolites secondaires (Takahashi, 1955). Des études spécifiques de gnotobiotique sont nécessaires pour s'assurer du rôle nutritionnel de la microflore de l'intestin chez le ver à soie du dernier âge.

CONCLUSION

Les études sur la microflore de l'intestin d'hybrides populaires et d'hybrides bivoltins supérieurs on mis en lumière le schéma de distribution de différents microbes de l'intestin. L'abondance comparativement plus élevée de microflore chez les hybrides bivoltins est probablement responsable du potentiel nutritionnel et de croissance plus élevés de ces hybrides. Dans cette étude, les charges significativement plus élevées en microbes de l'intestin et surtout la présence d'actinomycètes dans la zone de l'intestin postérieur chez les lignées de ver à soie méritent une certaine attention. Il faudrait aussi entreprendre des études exploratrices sur la présence de niches spécifiques pour les microbes chez le ver à soie. Des études ultérieures sur le rôle fonctionnel des actinomycètes chez les lignées de vers à soie pourraient ouvrir de nouvelles perspectives.

IMPACT OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* AND *TRICHODERMA HARZIANUM* IN MANAGEMENT OF PATHOGEN COMPLEXITY CAUSING ROOT ROT DISEASE IN MULBERRY

N. B. CHOWDARY, D. D. SHARMA, MALA, V. R., M. P. REDDY¹ & C. K. KAMBLE

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

¹Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Anantapur -515 001, India.

Various isolates of *Pseudomonas fluorescens* were collected from healthy rhizosphere of mulberry and screened under *in vitro* conditions against pathogen complexity (*Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Botryodiplodia theobromae* and *Macrophomina phaseolina*) causing root rot disease in mulberry. Among them, *P. fluorescens* (Psf-7) was found most effective against all the pathogens causing root rot. For developing an Integrated Disease Management strategy against the disease, compatibility test between Psf-7 and the existing technology Raksha (a talc based biofungicide prepared with *Trichoderma harzianum*) with neem oil cake was conducted and found compatible. A field study was undertaken to evaluate the effectiveness of *P. fluorescens* (Psf-7) with Raksha under semi-arid conditions of Andhra Pradesh for effective management of pathogen complexity causing root rot disease. The trial was conducted in sick plots having the mixed population of pathogens (3.1×10^7 CFU/g) causing root rot disease at Regional Sericultural Research Station, Anantapur with various treatments in randomized block design. *P. fluorescens* (a talc based bio-formulation of Psf-7), Raksha and neem oil cake were selected as treatments, individually and in combination. Results revealed that combined application of Psf-7 and Raksha along with neem oil cake was most effective against pathogen complexity causing root rot disease and disease control was recorded to an extent of 80.0 – 85.0 % over the control. The technology is eco-friendly besides improving the soil health and is suited to semi-arid conditions of Andhra Pradesh.

Keywords: Mulberry, root rot, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma harzianum*; pathogen complexity.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus* spp.) is mainly cultivated as a perennial crop for its foliage to feed silkworms (*Bombyx mori* L.) for production of lustrous silk. As the crop is intensively cultivated throughout the year under varied agroclimatic conditions in India, it is vulnerable to a number of soilborne diseases like stem canker, cutting rot, root knot, root rot and root disease complex (Sharma and Gupta, 2005). Among them, root rot disease is a major production constraint of the mulberry cultivation due to its epidemic nature and potential to kill the plants completely, resulting in leaf yield loss upto 31.49 % (Chowdary, 2006). Various types of root rots such as dry root rot [*Fusarium solani* (Mart.) Sacc./*F. oxysporum* Schlecht.], black root rot (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) and charcoal root rot [*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid.] have been reported on mulberry (Sharma *et al.*, 2003; Sharma and Gupta, 2005). The rapid death of the plants is due to the microbial complexity (involvement of more than one pathogen) and the pathogens were identified as *F. solani* (Fs), *F. oxysporum* (Fo), *B. theobromae* (Bt) and *M. phaseolina* (Mp) (Mala and Chowdary, 2005). The Fs, Fo along with Bt were found to be frequently associated causing the root rot disease in different

parts of Karnataka and Tamil Nadu while Fs, Fo along with Mp were observed in Andhra Pradesh (Chowdary *et al.*, 2003). Though integrated disease management involving the soil application of talc based bioformulation Raksha (*Trichoderma harzianum*) and root dipping of saplings in 0.1 % Mancozeb 75 % solution for half an hour has been recommended for the control of root rot disease caused by *F. solani* and *F. oxysporum* (Sharma *et al.*, 2003; Sharma and Gupta, 2005), sometimes the control measures do not achieve desired results due to involvement of pathogen complexity. Hence, a field study was under taken to evaluate the effectiveness of *Pseudomonas fluorescens* with the existing technology, Raksha (*T. harzianum*) under semi-arid conditions of Andhra Pradesh for effective management of pathogen complexity causing root rot disease in mulberry (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* and *M. phaseolina*). *P. fluorescens* was used in the study as it is reported to inhibit the pathogenic fungi by producing hydrogen cyanide and antimicrobial metabolites (Kloepper *et al.*, 1980; Loper, 1988; Pal and Jalali, 1998; Muthukumar and Bhaskaran, 2007).

MATERIALS AND METHODS

(I). Screening of isolates of *P. fluorescens* against root rot pathogens:

Seven isolates of *P. fluorescens* (Psf-1 to Psf-7) were isolated from rhizosphere of mulberry and their antagonistic ability was tested against pathogen complexity causing root rot disease (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* and *M. phaseolina*) under *in vitro* conditions by agar plug method (Takahashi *et al.*, 1979). The Potato Dextrose Agar (PDA) medium seeded with root rot pathogens was poured in 10-cm diameter Petri plates separately. Later, 4-mm diameter plug was cut from the actively growing colony of 7 isolates of *P. fluorescens* earlier grown on *Pseudomonas* agar medium (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Mumbai, India; Product code: M-120) and were placed centrally in the plates. The plugs cut from the PDA medium only were kept centrally to plates seeded with root rot pathogens separately as control for comparison. For each treatment 5 replications were maintained. All the plates were incubated for 7 days at $28 \pm 2^\circ \text{C}$. After incubation, the inhibition zone was measured and the degree of antagonism was categorized into following 5 classes (Baqual *et al.*, 2000).

- I = Inhibition zone - nil (Non antagonist)
- II = Inhibition zone of 0 - 5 mm diameter (Weak antagonist)
- III = Inhibition zone of 6 - 20 mm diameter (Moderate antagonist)
- IV = Inhibition zone of 21 - 50 mm diameter (Strong antagonist)
- V = Inhibition zone of 51 mm diameter (Very strong antagonist)

(II). Compatibility of effective isolate of *P. fluorescens* with Raksha (*T. harzianum*):

The compatibility test of effective isolate of *P. fluorescens* (Psf-7) and Raksha (*T. harzianum*) with neem oil cake was determined by poisoned food technique for Integrated Disease Management (IDM) against pathogen complexity causing root rot disease. Neem oil cake was selected as it is found to be effective in controlling the various soilborne diseases in mulberry (Sharma *et al.*, 2003). 100 ml of *T. harzianum* and *P. fluorescens* (Psf-7) selective lukewarm media was amended with 20 ml of neem oil cake decoction separately (25 ml of oil cake dissolved in 100 ml of sterile distilled water and kept for overnight). The medium was poured in Petri dishes and the mycelial discs (5 mm diameter) of each biocontrol agent were placed in the centre. The plates without any amendment of neem oil cake in the medium served as control. Five replications were maintained for each treatment. All the plates were incubated at $28 \pm 2^\circ \text{C}$ for 5 days. After incubation, the radial growth of each biocontrol agent was measured and percent inhibition of growth over the control was calculated.

(III). Field-testing of *P. fluorescens* with the existing technology (Raksha):

Experimental site and design:

The effective isolates of *P. fluorescens* (Psf-7) and *T. harzianum* (Raksha) were mass multiplied and talc based bioformulations were prepared by adopting standard recommended protocols (Jeyarajan *et al.*, 1994; Philip *et al.*, 2000) and evaluated for their efficacy under field conditions. The trial was conducted at the Regional Sericultural Research Station, Anantapur (Andhra Pradesh) in a sick plot measuring 1728 m² having the mixed population of pathogens causing root rot disease (3.1×10^7 CFU/g). The existing mulberry plantation was 3 years old (V-1 variety) under Indo-Japanese spacing [(90+150) cm × 60 cm] and maintained under irrigated conditions. The soil of the experimental plot was red sandy loam (sand : 74.7 %; silt : 17.3 % and clay : 8.0 %) with 8.1 pH, 0.28 % organic carbon, 12.9 kg/ha phosphorus and 278.2 kg/ha potash. The entire experimental plot was in Randomized Block Design (RBD) and subdivided into 24 sub-plots of 72 m² each with 100 plants to accommodate the eight treatments in three replications. Each sub plot was demarcated by bunds to minimize inter plot interference. The recommended package of practices was followed (Dandin *et al.*, 2003).

Method of application:

As mulberry is a perennial crop, the different treatments were imposed during intercultural operation followed by three times / year irrigation at an interval of 4 months. The bioformulation of *P. fluorescens* (Psf-7; 2.0×10^8 CFU/g)/Raksha (*T. harzianum*; 2.5×10^8 CFU/g) was applied after mixing with Farm Yard Manure (FYM; 1: 50) and kept for mass multiplication for 7 days under the shade by adding 10-12 liters of water for enhancing the development of the colonies of the bioagent. The mixture was applied at 500 g/plant around the roots at a depth of 15 cm in two treatments (T-1 and T-2). The bioformulation of Psf-7/*T. harzianum* (T-4 & T-5) was mixed along with neem oil cake and FYM (1:10:50) and applied at 500 g/plant. Neem oil cake (T-3) was applied after mixing with FYM (1:50) at 500 g/plant. Control plot (T-0) was applied with only FYM at 500 g/plant.

Observations:

After imposition of treatments, the leaf yield was recorded on 70th-75th days after pruning. Data on 5 crops were recorded in a year. The percent leaf yield improvement over control was calculated using the following formula:

Leaf yield increase over control =

$$\frac{\text{Leaf yield in treated plot} - \text{Leaf yield in control plot}}{\text{Leaf yield in control plot}} \times 100$$

Before imposing the subsequent dose of treatment, the severity of disease was recorded based on the plants survived; percentage of wilting/ yellowing of leaves and rotting of roots.

(IV). Statistical analysis:

The data recorded on *in vitro* efficacy of different isolates of *Pseudomonas fluorescens* against different root rot pathogens and other parameters of host (mulberry) like wilting of leaves and rotting of roots was subjected to test of significance (ANOVA) using INDOSTAT statistical software. In addition, post-hoc test viz., Tukey's Honestly Significantly Different (HSD) test was also done in order to calculate the significant differences among means belonging to different experiments.

RESULTS

(I). Screening of isolates of *P. fluorescens* against root rot pathogens:

Among the seven isolates of *P. fluorescens* (Psf-1 to Psf-7), maximum and significant inhibitory effect on radial growth of all the pathogens (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* and

M. phaseolina) was observed in Psf-7, which inhibited the growth of all the root rot pathogens by producing a clear and sharp inhibition zone of 55–62 mm diameter (Table-I). The extent of inhibition was categorized as strong antagonist under the class V. The other isolates of *P. fluorescens* showed poor to moderate inhibition against all the pathogens and were categorized as non-antagonist to good antagonist under classes I to IV.

(II). Compatibility of effective isolate of *P. fluorescens* with Raksha (*T. harzianum*):

The compatibility test among the effective isolate of *P. fluorescens* (Psf-7) and Raksha (*T. harzianum*) with neem oil cake revealed that the radial growth of both the biocontrol agents was 90.0 ± 0.0 mm in neem oil cake amended medium, which was on par with that of the control (90.0 ± 0.0 mm; without neem oil cake). The neem oil cake did not arrest the growth of the biocontrol agents viz., *P. fluorescens* (Psf-7) and *T. harzianum* indicating the compatibility.

(III). Field-testing of *P. fluorescens* with the existing technology (Raksha):

After imposing the III and final dose of different treatments, the maximum and significant survival of the plants (82.7 %) and improvement in leaf yield (50.6 %) over the control were recorded in T-7 (bioformulation of Psf-7 + *T. harzianum* + neem oil cake). The maximum reduction in disease severity (reduction in wilting of leaves: 80.0 % and reduction in rotting of roots: 85.0 %) was also recorded in T-7 over the control. The individual application of bioformulation of Psf-7, *T. harzianum* and neem oil cake suppressed the disease severity to an extent of 60.2–72.8 % with survival of plants ranging from 58.4 to 66.9 % and improvement in leaf yield upto 18.8–26.7 % over the control (Table- II).

DISCUSSION

In the present investigation, both the biocontrol agents (Psf-7 + *T. harzianum*) were found compatible with neem oil cake and can be easily integrated for IDM against pathogen complexity causing root rot disease in mulberry. The present results are in agreement with the findings of Sharma *et al.* (1999) who reported that *Trichoderma* was found to be compatible with neem oil cake.

Though all the treatments were found to be effective in controlling the disease, the reduction in disease severity was significantly higher when the *P. fluorescens* (Psf-7) was integrated with Raksha (*T. harzianum*) and neem oil cake. This can be attributed to the complementary effect of *P. fluorescens* (Psf-7), Raksha (*T. harzianum*) and neem oil cake. *P. fluorescens* (Psf-7) has the ability to synthesize the toxic volatile substances such as hydrogen cyanide, siderophores, antimicrobial metabolites, *etc.* (Kloepper *et al.*, 1980; Muthukumar and Bhaskaran, 2007), which inhibit the growth of pathogens causing root rot disease (Loper, 1988; Voisard, 1989). *T. harzianum* present in Raksha inhibits the pathogen through hyperparasitism, competition and production of various antifungal substances (chitinases, trichodermin and gluconase), inactivating the pathogens by dissolving the cell wall (Tronsmo, 1996; Sinha and Thakare, 2003). Neem oil cake contains the compounds such as nimbidin, thionemone, limonoids and phenolics (Alam, 1993), which are toxic to large number of soilborne fungal pathogens (Praveen and Alam, 1993; Singh and Singh, 1997). Oil cakes are also quick acting organic manures containing nutrients like nitrogen, phosphate and potash thereby improving the plant growth (Gupta, 2003).

The individual application of *P. fluorescens* (Psf-7), *T. harzianum* and neem oil cake did not show much reduction in disease severity and improvement in leaf yield indicating that individual application could not provide the desired level of control measures, hence IDM is essential.

The results of the present study are in conformity with the findings of Philip *et al.* (2000) who reported that talc based bioformulation: Raksha developed from *T. harzianum* (Th-I), reduced the disease severity of root rot caused by *F. solani* and *F. oxysporum* in mulberry up to 70%. Several oil cakes and isolates of *P. fluorescens* have been reported to possess strong effect against pathogens causing wilt/root rot diseases and also serve as barriers to their infections (Praveen and Alam, 1993; Sharma *et al.*, 1995; 2003; Pal and Jalali, 1998; Muthukumar and Bhaskaran, 2007).

Table I. *In vitro* efficacy of different isolates of *Pseudomonas fluorescens* (Psf-1 to 7) against pathogen complexity causing root rot disease in mulberry.

Tableau I. Efficacité *in vitro* de différents isolats de *Pseudomonas fluorescens* (Psf 1 à 7) contre le complexe de pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le mûrier.

Isolate of <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pathogens causing root rot disease in mulberry (Mean $\pm$ SE)							
	<i>F. solani</i>		<i>F. oxysporum</i>		<i>B. theobromae</i>		<i>M. phaseolina</i>	
	Inhibition zone (mm)	Degree of antagonism (Class)	Inhibition zone (mm)	Degree of antagonism (Class)	Inhibition zone (mm)	Degree of antagonism (Class)	Inhibition zone (mm)	Degree of antagonism (Class)
<i>Pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le mûrier (Moyenne $\pm$ SE)</i>								
Isolat de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>F. solani</i>		<i>F. oxysporum</i>		<i>B. theobromae</i>		<i>M. phaseolina</i>	
	Zone d'inhibition (mm)	Degré d'antagonisme (classe)	Zone d'inhibition (mm)	Degré d'antagonisme (classe)	Zone d'inhibition (mm)	Degré d'antagonisme (classe)	Zone d'inhibition (mm)	Degré d'antagonisme (classe)
Control /Témoin	0.0 ^h $\pm$ 0.00	I	0.0 ^h $\pm$ 0.00	I	0.0 ^f $\pm$ 0.00	I	0.0 ^c $\pm$ 0.00	I
Psf-1	8.5 ^c $\pm$ 0.04	III	10.0 ^c $\pm$ 0.08	III	0.0 ^f $\pm$ 0.00	I	0.0 ^c $\pm$ 0.00	I
Psf-2	5.0 ^f $\pm$ 0.08	II	8.2 ^f $\pm$ 0.08	III	14.0 ^b $\pm$ 0.09	III	0.0 ^c $\pm$ 0.00	I
Psf-3	4.2 ^g $\pm$ 0.04	II	5.0 ^g $\pm$ 0.07	II	0.0 ^f $\pm$ 0.00	I	0.0 ^c $\pm$ 0.00	I
Psf-4	16.3 ^c $\pm$ 0.10	III	22.0 ^c $\pm$ 0.14	IV	12.6 ^c $\pm$ 0.20	III	10.0 ^c $\pm$ 0.07	III
Psf-5	10.0 ^d $\pm$ 0.05	III	12.0 ^d $\pm$ 0.07	III	5.0 ^e $\pm$ 0.31	II	7.5 ^d $\pm$ 0.16	III
Psf-6	22.5 ^b $\pm$ 0.08	IV	26.3 ^b $\pm$ 0.21	IV	12.0 ^d $\pm$ 0.31	III	10.6 ^b $\pm$ 0.15	III
Psf-7	60.0 ^a $\pm$ 0.31	V	62.0 ^a $\pm$ 0.35	V	55.0 ^a $\pm$ 0.18	V	57.0 ^a $\pm$ 0.17	V
SEM $\pm$	0.98		0.76		1.07		0.72	
CD ($P \leq 0.05$)	2.64		2.14		3.02		2.02	

Means in the column, followed by the same letter are not significantly different according to the Tukey's HSD test ($P \leq 0.05$) / Les moyennes dans la colonne que suivent la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey ($P \leq 0.05$)

Table II. Impact of different treatments on severity of root rot disease under field conditions.

Tableau II. Impact de différents traitements sur la sévérité de la maladie de la pourriture de la racine dans des conditions de terrain.

Sl. No.	Treatment details	Disease severity (Mean $\pm$ SE)					Leaf yield (Mean $\pm$ SE)	
		Survival of plants	Wilting of leaves	Reduction over control	Rotting of roots	Reduction over control	Kg/ha/yr	Increase over control
		Sévérité de la maladie (Moyenne $\pm$ SE)					Rendement foliaire (Moyenne $\pm$ SE)	
No. de série	Précisions sur le traitement	Survie des plants (%)	Flétrissure des feuilles (%)	Réduction par rapport au témoin (%)	Pourriture des racines (%)	Réduction par rapport au témoin (%)	kg / ha / an	Augmentation par rapport au témoin (%)
T-0	Control (pathogen load only) Témoin (charge en pathogène seulement)	47.8 ^f $\pm$ 0.70	72.4 ^a $\pm$ 0.51	-	70.3 ^a $\pm$ 0.65		38260 ^b $\pm$ 56.8	
T-1	Bioformulation of <i>P. fluorescens</i> (Psf-7) only Bioformulation de <i>P. fluorescens</i> (Psf-7) seulement	63.8 ^d $\pm$ 0.73	24.6 ^c $\pm$ 0.32	66.0	22.1 ^c $\pm$ 0.23	68.6	46524 ^f $\pm$ 14.97	21.6
T-2	Bioformulation of Raksha (<i>T. harzianum</i>) only Bioformulation de Raksha (<i>T. harzianum</i>) seulement	66.9 ^d $\pm$ 1.62	21.0 ^d $\pm$ 0.51	71.0	19.1 ^d $\pm$ 0.25	72.8	48475 ^c $\pm$ 23.62	26.7
T-3	N neem oil cake (NOC) only Tourteau de margousier seulement	58.4 ^c $\pm$ 1.62	28.8 ^b $\pm$ 0.26	60.2	27.0 ^b $\pm$ 0.15	61.6	45453 ^g $\pm$ 27.97	18.8
T-4	Psf-7 + Raksha	76.8 ^b $\pm$ 1.15	16.8 ^e $\pm$ 0.15	76.8	15.9 ^c $\pm$ 0.17	77.4	54253 ^b $\pm$ 71.29	41.8
T-5	Psf-7 + NOC	72.5 ^{bc} $\pm$ 0.68	19.5 ^d $\pm$ 0.45	73.0	18.4 ^d $\pm$ 0.25	73.8	49317 ^d $\pm$ 36.04	28.9
T-6	Raksha + NOC	75.3 ^b $\pm$ 1.67	17.6 ^e $\pm$ 0.25	75.7	16.3 ^c $\pm$ 0.11	76.8	53067 ^c $\pm$ 39.14	38.7
T-7	Psf-7 + Raksha + NOC	82.7 ^a $\pm$ 0.43	14.5 ^f $\pm$ 0.23	80.0	10.6 ^f $\pm$ 0.25	85.0	57619 ^a $\pm$ 48.21	50.6
	SEM $\pm$	0.89	0.91	-	1.27	-	75.78	-
	CD ($P \leq 0.05$)	2.64	2.56	-	3.57	-	212.21	-

Means in the column, followed by the same letter are not significantly different according to the Tukey's HSD test ($P \leq 0.05$)Les moyennes dans la colonne, que suivent la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey ($P \leq 0.05$)

The present study suggests that for effective management of the root rot disease complex in mulberry under semi-arid conditions of Andhra Pradesh, soil application of *P. fluorescens* (Psf-7) and Raksha (*T. harzianum*) after mixing with neem oil cake and FYM (1:1:10:50) at 500 g/plant in 3 times/yr followed by regular irrigation is recommended. The recommended package is ecofriendly and effective in controlling the disease upto 80-85 % besides improving the soil health.

REFERENCES

- ALAM M.M. (1993) Bioactivity against phytonematodes. In: Neem Research and Development. RANDHAWA, N. S. & PARMAR, B. S. (Eds.), Society of Pesticide Science, India, pp. 123-143.
- BAQUAL M.F., SHARMA D.D., GUPTA V.P. & CHANDRASHEKAR D.S. (2000) Efficacy of biocontrol agents and plant products against *Pseudomonas syringae* pv. *mori* and *Xanthomonas campestris* pv. *mori* causing bacterial blight in mulberry. *Sericologia*, 40, 479-485.
- CHOWDARY N. B., GOVINDAIAH & SHARMA D. D. (2003) Microbial Complexity of mulberry (*Morus* spp.) root rot disease in South India. In: Plant pathogens diversity in relation to plant health. Manoharachary, C. (Ed.), pp. 112, Osmania University, Hyderabad, India.
- CHOWDARY N. B. (2006) Studies on root rot disease of mulberry (*Morus* spp.) and its management with special reference to the antagonistic microbes. Ph. D. Thesis, University of Mysore, Mysore, India.
- DANDIN S. B., JAYASWAL J. & GIRIDHAR K. (2003) Hand Book of Sericulture Technologies. 3rd edition, Central Silk Board, Bangalore, India, pp. 11-87.
- GUPTA P. K. (2003) A handbook of soil, fertilizer and manure. (2nd Edition), Agrobios, Jodhpur, India.
- JEYARAJAN R., RAMAKRISHNAN G., DINAKARAN D. & SRIDAR R. (1994) Development of products of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* for biological control of root rot diseases. In: Biotechnology in India, Dwivedi, B. K. (Ed.), Bioved Research Society, Allahabad, India, pp. 25-26.
- KLOEPFER J. W., LEONG J., TEINTZE M. & SCHROTH M. N. (1980) Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature*, 286: 885-886.
- LOPER J. E. (1988) Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pithium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology*, 78: 166-172.
- MALA, V. R. & CHOWDARY N. B. (2005) Collection of disease samples for isolation and identification of pathogens involved in root rot disease and their pathogenicity on mulberry. In: Annual Report (2004-05), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, pp. 36-37.
- MUTHUKUMAR A. & BHASKARAN R. (2007) Efficacy of antimicrobial metabolites of *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula against *Rhizoctonia solani* Kuhn. and *Pythium* sp. *J. Biol. Control*, 21 (1): 105-110.
- PAL V & JALALI I. (1998). Rhizosphere bacteria for biocontrol of plant diseases. *Indian J. Microbiol.*, 38: 187 – 204.
- PHILIP T., SHARMA D.D. & GOVINDAIAH (2000) Development of talc based biofungicide using *Trichoderma harzianum* and its effect on mulberry root rot disease. *Sericologia*, 40, 637-642.
- PRAVEEN G. & ALAM M. M. (1993) Bioactivity against plant pathogens. In: Neem Research and Development. Randhawa, N. S. and Parmar, B. S. (Eds.), Publication No. 3, Society of Pesticide Science, India, pp. 144-153.
- SHARMA D.D. & GUPTA V. P. (2005) Soilborne diseases of mulberry and their management. In: A text Book on Mulberry Crop Protection. GOVINDAIAH, GUPTA V.P., SHARMA D.D., RAJADURAI S. & NAIK V.N. (Eds.), Central Silk Board (Ministry of Textiles-Government of India) Madivala, Bangalore, India, pp. 195-228.

- SHARMA S. K., AGRAWAL R. K. & LODHA S. (1995) Population changes of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cumini* in oil cake and crop residue amended sandy soils. *App. Soil Ecol.*, 20: 281-284.
- SHARMA D. D., GUPTA V. P. & CHANDRASHEKAR D. S. (1999) Compatibility of certain biocontrol agents with chemical pesticides and fertilizers. *Indian J. Seric.*, 38: 79-82.
- SHARMA D.D., NAIK V.N., CHOWDARY N. B. & MALA V.R. (2003) Soilborne diseases of mulberry and their management – A review. *Int. J. Indust. Entomol.*, 7, 93-106.
- SINGH R. S. & SINGH H. V. (1997) Plant disease management. In: *Neem in sustainable agriculture*. Narwal, S. S.; Tauro, P. and Bisla, S. S. (Eds.), Scientific Publishers, Jodhpur, India, pp. 179-191.
- SINHA A. A. & THAKRE R. P. (2003) Role of *Trichoderma viride* in controlling *Fusarium* rhizome rot of ginger (*Zingiber officinale*). In: *Plant Protection – A biocontrol approach*. Trivedi, P. C. (Ed.), Avishkar Publishers, Distributors, Jaipur, India, pp. 340-354.
- TAKAHASHI S., YOSHIDA Y., SHOICHIAMANO O., KOJIMA M., INOUE S. & NIIDA T. (1979) Studies on the Actinomycetes producing antibiotics only on culture. I: Screening, Taxonomy and morphology productivity relationship of *Streptomyces halstedii*. *J. Antibiotics.*, 32: 427-436.
- TRONSMO A. (1996) *Trichoderma harzianum* in biological control of fungal diseases; In: *Principles and practice of managing soilborne plant pathogens*. Robert H. (Ed), APS Press, The American Phytopathological Society. St. Paul, Mimesota, pp. 213-235.
- VOISARD C., KEEL C., HASS D. & DEFAGO G. (1989) Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*, 8: 351-358.

IMPACT DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ET DE *TRICHODERMA HARZIANUM* DANS LA LUTTE CONTRE L'ENSEMBLE DES PATHOGENES PROVOQUANT LA MALADIE DE LA POURRITURE DE LA RACINE CHEZ LE MURIER

N. B. CHOWDARY, D. D. SHARMA, MALA V. R., M. P. REDDY¹ & C. K. KAMBLE

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

1. Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Anantapur – 515 0001, Inde.

On a recueilli plusieurs isolats de *Pseudomonas fluorescens* provenant de la rhizosphère saine du mûrier et on les a évalués dans des conditions *in vitro* contre l'ensemble de pathogènes (*Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Botryodiplodia theobromae* et *Macrophomina phaseolina*) provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le mûrier. Parmi eux, *P. fluorescens* (Psf-7) s'avère le plus efficace contre tous les pathogènes provoquant la pourriture de la racine. Pour mettre au point une stratégie de lutte intégrée contre la maladie, on a réalisé un test de compatibilité entre Psf-7 et la technologie existante, le Raksha (un biofongicide à base de talc préparé avec *Trichoderma harzianum*) et du tourteau de margousier et on l'a trouvé compatible. On a entrepris une étude sur le terrain pour évaluer l'efficacité de *P. fluorescens* (Psf-7) et du Raksha dans les conditions semi-arides de l'Andhra Pradesh pour une lutte efficace contre l'ensemble de pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine. On a entrepris l'essai dans des parcelles malades avec une population mélangée de pathogènes ($3,1 \times 10^7$ CFU/g) provoquant la maladie de la pourriture de la racine à la **Regional Sericultural Research Station** d'Anantapur avec des traitements variés selon une conception aléatoire en blocs. On sélectionne *P. fluorescens* (une bioformulation de Psf-7 à base de talc), le Raksha et le tourteau de margousier comme traitements, individuellement et en combinaison. Les résultats révèlent que l'application combinée de Psf-7 et de Raksha avec du tourteau de margousier est la plus efficace contre l'ensemble des pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine et on enregistre une lutte contre la maladie de l'ordre de 80 à 85 % par rapport au témoin. La technologie est écologique tout en améliorant la santé du sol et est adaptée aux conditions semi-arides de l'Andhra Pradesh.

INTRODUCTION

On cultive principalement le mûrier (*Morus* spp.) comme culture pérenne pour son feuillage pour nourrir les vers à soie (*Bombyx mori* L.) pour la production de soie chatoyante. Comme la culture est intensément pratiquée pendant toute l'année dans les conditions agroclimatiques variées de l'Inde, elle est sensible à un certain nombre de maladies véhiculées par le sol, comme le chancre de la tige, la pourriture des boutures, le nématode de la racine, la pourriture de la racine et l'ensemble des maladies de la racine (Sharma et Gupta, 2005). Parmi elles, la maladie de la pourriture de la racine est une contrainte principale de la production dans la culture du mûrier en raison de sa nature épidémique et de son potentiel à tuer complètement les plantes, ce qui entraîne une perte de rendement jusqu'à 31,49 % (Chowdary, 2006). On a signalé plusieurs types de pourritures de la racine telles que la pourriture de la racine sèche [*Fusarium solani* (Mart.) Sacc. / *F. oxysporum* Schlecht], la pourriture noire de la racine (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) et la pourriture de la racine charbonneuse [*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid.] chez le mûrier (Sharma et coll., 2003 ; Sharma et Gupta, 2005). La mort rapide des plantes est due à la complexité microbienne (implication de plus d'un

pathogène) et on a identifié les pathogènes tels que *F. solani* (Fs), *F. oxysporum* (Fo), *B. theobromae* (Bt) et *M. phaseolina* (Mp) (Mala et Chowdary, 2005). Fs, Fo et Bt s'avèrent fréquemment associés, ce qui provoque la maladie de la pourriture dans différentes parties du Karnataka et du Tamil Nadu, tandis qu'on observe Fs, Fo et Mp dans l'Andhra Pradesh (Chowdary et coll., 2003). Bien que la gestion intégrée de la maladie impliquant l'application d'une bioformulation à base de talc dans le sol, le Raksha (*Trichoderma harzianum*) et de tremper les racines des jeunes plants dans 0,1 % de solution de Mancozeb à 75 % pendant une demi heure ait été recommandée pour lutter contre la maladie de la pourriture de la racine provoquée par *F. solani* et *F. oxysporum* (Sharma et coll., 2003 ; Sharma et Gupta, 2005), parfois les mesures de lutte ne permettent pas d'obtenir les résultats désirés à cause de l'implication d'un ensemble de pathogènes. Nous avons donc entrepris une étude sur le terrain pour évaluer l'efficacité de *Pseudomonas fluorescens* avec la technologie existante, le Raksha (*T. harzianum*) dans les conditions semi – arides de l'Andhra Pradesh pour lutter efficacement contre l'ensemble de pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le mûrier (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* et *M. phaseolina*). On a utilisé *P. fluorescens* dans l'étude puisqu'on a signalé qu'il inhibe les champignons pathogènes en produisant du cyanure d'hydrogène et des métabolites antimicrobiens (Kloepper et coll., 1990 Loper, 1988 ; Pal et Jalali, 1998 ; Muthukumar et Bhaskaran, 2007).

MATERIELS ET METHODES

(I). Evaluation des isolats de *P. fluorescens* contre les pathogènes de la pourriture de la racine :

On a obtenu sept isolats de *P. fluorescens* (Psf-1 à Psf-7) de la rhizosphère du mûrier et on a testé leur capacité antagoniste contre l'ensemble des pathogènes provoquant la pourriture de la racine (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* et *M. phaseolina*) dans des conditions *in vitro* par la méthode du tampon agar (Takahashi et coll., 1979). On verse le milieu d'agar de dextrose de pomme de terre (PDA) ensemencé avec les pathogènes de la pourriture de la racine, séparément dans des boîtes de Petri de 10 cm de diamètre. Plus tard, on coupe un tampon de 4 mm de diamètre de la colonie croissant activement des 7 isolats de *P. fluorescens* ayant été cultivés auparavant sur un milieu agar *Pseudomonas* (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Mumbai Inde ; code du produit : M-120) et on les place au centre des boîtes. Les tampons coupés seulement sur du milieu PDA sont conservés au centre des boîtes ensemencées avec les pathogènes de la pourriture de la racine, séparément comme témoins. Pour chaque traitement, on maintient 5 répétitions. On incube toutes les boîtes pendant 7 jours à $28 \pm 2^\circ$ C. Après l'incubation, on mesure la zone d'inhibition et on classe le degré d'antagonisme dans les 5 catégories suivantes (Baqual et coll., 2000).

- I = Zone d'inhibition – nulle (Non antagoniste)
- II = Zone d'inhibition de 0 à 5 mm de diamètre (Antagoniste faible)
- III = Zone d'inhibition de 6 à 20 mm de diamètre (Antagoniste modéré)
- IV = Zone d'inhibition de 21 à 50 mm de diamètre (Antagoniste puissant)
- V = Zone d'inhibition de 51 mm de diamètre (Antagoniste très puissant)

(II) Compatibilité de l'isolat efficace de *P. fluorescens* avec le Raksha (*T. harzianum*) :

On réalise le test de compatibilité de l'isolat efficace de *P. fluorescens* (Psf-7) et du Raksha (*T. harzianum*) avec du tourteau de margousier par la technique d'empoisonnement de la nourriture pour la Lutte Intégrée contre les Maladies (IDM) contre l'ensemble des pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine. On sélectionne le tourteau de margousier puisqu'il s'avère efficace pour lutter contre les diverses maladies véhiculées par le sol chez le mûrier (Sharma et coll., 2003). On modifie 100 ml de milieu sélectif tiède de *T. harzianum* et de *P. fluorescens* (Psf-7) séparément avec 20 ml de décoction de tourteau de margousier (25 ml de tourteau dissout dans 100

ml d'eau distillée stérile et on le conserve pendant la nuit). On verse le milieu dans des boîtes de Petri et on place les disques mycéliaux (5 mm de diamètre) de chaque agent de lutte biologique au centre. Les boîtes sans aucun amendement du milieu avec du tourteau de margousier servent de témoin. On maintient cinq répétitions pour chaque traitement. On incube toutes les plaques à $28 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 5 jours. Après l'incubation, on mesure la croissance radiale de chaque agent de lutte biologique et on calcule le pourcentage d'inhibition de la croissance par rapport au témoin.

(III) Test sur le terrain de *P. fluorescens* avec la technologie existante (Raksha) :

Lieu et conception de l'expérience :

Les isolats efficaces de *P. fluorescens* (Psf-7) et de *T. harzianum* (Raksha) sont multipliés en masse, on prépare les bioformulations à base de talc en adoptant les protocoles standards recommandés (Jeyarajan et coll., 1994 ; Philip et coll., 2000) et on évalue leur efficacité dans des conditions sur le terrain. On a réalisé le test au *Regional Sericultural Research Station*, à Anantapur (Andhra Pradesh) dans une parcelle malade mesurant 1728 m^2 , avec une population mélangée de pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine ($3,1 \times 10^7 \text{ CFU/g}$). La plantation de mûriers existante a trois ans (variété V-1) avec un espacement indo-japonais [$(90 + 150) \text{ cm} \times 60 \text{ cm}$] et est maintenue sous irrigation. Le sol de la parcelle expérimentale est du terreau sablonneux rouge (sable : 74,7 % ; limon : 17,3 % et argile : 8 %) avec un pH de 8,1 ; 0,28 % de charbon organique, 12,9 kg / ha de phosphore et 278,2 kg / ha de potasse. Toute la parcelle expérimentale est disposée selon une conception entièrement aléatoire (RBD) et subdivisée en 24 sous-parcelles de 72 m^2 contenant chacune 100 plants pour accueillir les huit traitements en trois répétitions. Chaque sous-parcelle est délimitée par des digues pour minimiser l'interférence entre les parcelles. On suit l'ensemble des pratiques recommandées (Dandin et coll., 2003).

Méthode d'application :

Comme le mûrier est une culture pérenne, on procède aux différents traitements pendant les opérations interculturelles, suivies par 3 irrigations par an, tous les 4 mois. On applique la bio-formulation de *P. fluorescens* (Psf-7 ; $2 \times 10^8 \text{ CFU/g}$) / Raksha (*T. harzianum* ; $2,5 \times 10^8 \text{ CFU/g}$) après l'avoir mélangée avec du fumier (FYM : 1 : 50) et l'avoir conservée pour la multiplication en masse pendant 7 jours à l'ombre en ajoutant 10 à 12 litres d'eau pour augmenter le développement des colonies de l'agent biologique. On applique le mélange à raison de 500 g / plant autour des racines à une profondeur de 15 cm en deux traitements (T1 et T2). On mélange la bioformulation de Psf-7 / *T. harzianum* (T-4 et T-5) avec du tourteau de margousier et du fumier (1 : 10 : 50) et on l'applique à raison de 500 g / plant. On applique le tourteau de margousier (T-3) après l'avoir mélangé avec du fumier (1 : 50) à raison de 500 g / plant. Pour la parcelle témoin (T-0), on applique seulement du fumier à raison de 500 g / plant.

Observations :

Après l'application des traitements, on enregistre le rendement foliaire 70 à 75 jours après la taille. On enregistre les données pour 5 récoltes par an. On calcule le pourcentage d'amélioration du rendement foliaire par rapport au témoin en utilisant la formule suivante :

Augmentation du rendement foliaire par rapport au témoin =

$$\frac{\text{Rendement foliaire de la parcelle traitée} - \text{rendement foliaire de la parcelle témoin}}{\text{Rendement foliaire de la parcelle témoin}} \times 100$$

Avant d'appliquer la dose suivante de traitement, on enregistre la sévérité de la maladie, d'après la survie des plants, le pourcentage de flétrissure / de jaunissement des feuilles et la pourriture des racines.

(IV) Analyse statistique :

Les données enregistrées sur l'efficacité *in vitro* des différents isolats de *Pseudomonas fluorescens* contre les différents pathogènes de la pourriture de la racine et pour d'autres paramètres de l'hôte (mûrier), comme la flétrissure des feuilles et le pourrissement des racines sont soumises au test de signification (ANOVA) en utilisant le logiciel statistique INDOSTAT. De plus, on procède aussi au test post-hoc, c'est-à-dire le test de Différence Significative de Tukey (HSD) de manière à calculer les différences significatives entre les moyennes appartenant aux différentes expériences.

RESULTATS

(I). Evaluation des isolats de *P. fluorescens* contre les pathogènes de la pourriture de la racine :

Parmi les sept isolats de *P. fluorescens* (Psf-1 à Psf-7), on observe l'effet inhibiteur maximum et significatif sur la croissance radiale de tous les pathogènes (*F. solani*, *F. oxysporum*, *B. theobromae* et *M. phaseolina*) avec Psf-7, qui inhibe la croissance de tous les pathogènes de la pourriture de la racine en produisant une zone d'inhibition claire et nette de 55 à 62 mm de diamètre (Tableau I). On classe le degré d'inhibition dans la catégorie V comme fortement antagoniste. Les autres isolats de *P. fluorescens* présentent une inhibition faible à modérée contre tous les pathogènes et sont classés dans les catégories I à IV allant de non antagoniste à bon antagoniste.

(II) Compatibilité de l'isolat efficace de *P. fluorescens* avec le Raksha (*T. harzianum*) :

Le test de compatibilité entre l'isolat efficace de *P. fluorescens* (Psf-7) et le Raksha (*T. harzianum*) avec le tourteau de margousier révèle que la croissance radiale des deux agents de lutte biologique est de 90 ± 0 mm avec le milieu modifié avec du tourteau de margousier à égalité avec celui du témoin (90 ± 0 mm, sans tourteau de margousier). Le tourteau de margousier n'arrête pas la croissance des agents de lutte biologique, c'est-à-dire de *P. fluorescens* (Psf-7) et de *T. harzianum*, ce qui indique la compatibilité.

(III) Test sur le terrain de *P. fluorescens* avec la technologie existante (Raksha) :

Après avoir appliqué la 3^{ème} et dernière dose des différents traitements, on enregistre la survie des plants (82,7 %) et l'amélioration du rendement foliaire (50,6 %) maximum et significatives par rapport au témoin avec T-7 (bioformulation de Psf-7 + *T. harzianum* + tourteau de margousier). On enregistre aussi la diminution maximum de la sévérité de la maladie (diminution de la flétrissure des feuilles : 80 % et diminution de la pourriture des racines : 85 %) avec T-7. L'application individuelle de bioformulation de Psf-7, de *T. harzianum* et de tourteau de margousier diminue la sévérité de la maladie de l'ordre de 60,2 à 72,8 % avec une survie des plants comprise entre 58,4 et 66,9 % et une amélioration du rendement foliaire de 18,8 à 26,7 % par rapport au témoin (Tableau II).

DISCUSSION

Dans cette étude, les deux agents de lutte biologique (Psf-7 + *T. harzianum*) s'avèrent compatibles avec le tourteau de margousier et peuvent être facilement intégrés dans une IDM contre l'ensemble de pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine chez le mûrier. Ces résultats sont en accord avec les observations de Sharma et coll., (1999) qui ont signalé que *Trichoderma* s'avère compatible avec le tourteau de margousier.

Bien que tous les traitements s'avèrent efficaces pour lutter contre la maladie, la diminution de la sévérité de la maladie est significativement plus élevée quand on intègre *P. fluorescens* (Psf-7) au

Raksha (*T. harzianum*) et au tourteau de margousier. On peut attribuer cela à l'effet complémentaire de *P. fluorescens* (Psf-7), du Raksha (*T. harzianum*) et du tourteau de margousier. *P. fluorescens* (Psf-7) a la capacité de synthétiser les substances volatiles toxiques telles que le cyanure d'hydrogène, des sidérophores, des métabolites antimicrobiens, etc. (Kloepepr et coll., 1980 ; Muthukumar et Bhaskaran, 2007), qui inhibent la croissance des pathogènes provoquant la maladie de la pourriture de la racine (Loper, 1988 ; Voisar, 1989). *T. harzianum*, qui est présent dans le Raksha inhibe le pathogène par l'hyperparasitisme, la concurrence et la production de diverses substances antifongiques (chitinases, trichodermine et gluconase) qui neutralisent les pathogènes en dissolvant la paroi cellulaire (Tronsmo, 1996 ; Sinha et Thakare, 2003). Le tourteau de margousier contient des composants tels que la nimbidine, le thionémone, des limonoïdes et des phénols (Alam, 1993), qui sont toxiques pour un grand nombre de pathogènes fongiques véhiculés par le sol (Praveen et Alam, 1993 ; Singh et Singh, 1997). Les tourteaux de margousier sont aussi des engrais organiques qui agissent rapidement et qui contiennent des nutriments comme l'azote, le phosphate et le potasse, ce qui améliore donc la croissance de la plante (Gupta, 2003). L'application individuelle de *P. fluorescens* (Psf-7), de *T. harzianum* et de tourteau de margousier n'entraîne pas beaucoup de diminution de la sévérité de la maladie et d'amélioration du rendement foliaire, ce qui indique que l'application individuelle n'apporte pas le niveau désiré de lutte, l'IDM est donc essentielle.

Les résultats de cette étude sont conformes à ceux de Philip et coll., (2000) qui ont signalé que la bioformulation à base de talc, le Raksha, mise au point à partir de *T. harzianum* (Th-1), diminue la sévérité de la maladie de la pourriture de la racine provoquée par *F. solani* et par *F. oxysporum* chez le mûrier jusqu'à 70 %. On a signalé que plusieurs tourteaux et isolats de *P. fluorescens* possèdent un effet puissant contre les pathogènes provoquant les maladies de la flétrissure / de la pourriture de la racine et servent aussi de barrières à leurs contaminations (Praveen et Alam, 1993 ; Sharma et coll., 1995 ; 2003 ; Pal et Jalali, 1998 ; Muthukumar et Bhaskaran, 2007).

Cette étude suggère que pour une gestion efficace de l'ensemble des maladies de la pourriture de la racine chez le mûrier dans les conditions semi-arides de l'Andhra Pradesh, on recommande l'application de *P. fluorescens* dans le sol (Psf-7) et de Raksha (*T. harzianum*), après les avoir mélangés avec du tourteau de margousier et du fumier (1 : 1 : 10 : 50) à raison de 500 g / plant, 3 fois par an, suivi par une irrigation régulière. Ce système recommandé est écologique et efficace pour lutter contre la maladie jusqu'à 80-85 %, tout en améliorant la santé du sol.

LITSEA GLUTINOSA LOUR.,- A NEW FOOD PLANT OF MUGA SILKWORM (ANTHRAEA ASSAMENSIS HELFER.,)

BHARAT B. BINDROO*, N. TIKEN SINGH AND A.K.SAHU

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

The performance of Litsea glutinosa Lour., (locally known as Bodokaki) as a new food plant of muga silkworm (Antheraea assamensis Helfer.,) was assessed in relation to various rearing aspects, analysis of cocoon and grainage performance there of, as against two designated primary muga food plants viz., Persea bombycina Kost., (locally known as Som) and Litsea polyantha Juss., (locally known as Soalu) during Kotia crop season (September-October 2005). The data were recorded for effective rate of rearing (%), larval period (days), mature larval weight (g), cocoon weight (g), shell weight (g), shell ratio (%), floss (%), cocoon length and breadth (cm), moth weight (g), pupal period (days), grainage period (days), coupling (%), eggs per gram (no.), egg weight (g) and hatching (%). The values for various cocoon characteristics depicted that L. glutinosa fed cocoon are smaller in size, lighter in weight with low shell weight and have less silk content than P. bombycina and L. polyantha. The cocoon productivity with 45% ERR on L. glutinosa though falling within the prescribed cocoon productivity range of 45-50 cocoon/dfls in Kotia crop season may not be accepted commercially in light of the comparatively low values as expressed for shell weight and silk ratio. However, having no difference in pupal period and grainage period than P. bombycina besides with no difference in coupling efficiency than P. bombycina and L. polyantha, the L. glutinosa as a new food plant of muga exhibited an efficient and higher oviposition index of 99% with a similar period of incubation (9 days) and good hatchability (92%), as that of P. bombycina and L. polyantha. Therefore the species has the scope for using it as a potential food for muga seed crop rearings.

Keywords: *Litsea glutinosa*, *Persea bombycina*, *Litsea polyantha*, *Antheraea assamensis*, muga food plant, commercial crop, seed cocoon.

INTRODUCTION

Muga silkworm (*Antheraea assamensis* Helfer.,) a polyvoltine sericigenous insect is commonly reared outdoors in North-Eastern India for obtaining unique golden yellow muga silk. Being polyphagous, it feeds on a wide range of host plants (Choudhury, 1982., Thangavelu *et al.*, 1988; Barah *et al.*, 1992; Singha and Das, 1999; Chakravorty, 2004; Choudhury, 2005). As many as 28 plant species along with their synonyms are reported (Bindroo *et al.*, 2006) which become host to muga silkworm and belong mostly to the family Lauraceae with representatives also from Rutaceae, Rhamnaceae, Celastraceae, Magnoliaceae, Verbanaceae, Asclepiadaceae, Styraceae, Annonaceae and Apocynaceae.

However, amongst these the plant species viz., *Persea bombycina* Kost., (locally known as Som) and *Litsea polyantha* Juss., (locally known as Soalu) belonging to a common family Lauraceae, form the primary food for *A. assamensis* Helfer., and are principally utilized by the farmers of the region to produce muga silk cocoons.

* Present address/Correspondence: Regional Sericultural Research Station, CSB Complex, Miransahib, 181101, Jammu, India. (email: bindrobbg)

Table I. The climatic conditions of Kotia season during the course of study at RMRS, Boko, Assam.*Tableau I. Conditions climatiques pour la saison Kotia au cours de l'étude au RMRS, Boko, Assam.*

Month	Temperature (°C)				Relative humidity (%)						Total no of rainy days
	Temperature (° C)				Humidité relative (%)						
	Minimum		Maximum		7AM		12AM		4 PM		
	Range	Av.	Range	Av.	Range	Av.	Range	Av.	Range	Av.	Nbre total de jours de pluie
Mois	Fourchette	Moyenne	Fourchette	Moyenne	Fourchette	Moyenne	Fourchette	Moyenne	Moyenne	Moyenne	
September 2005 <i>Septembre 2005</i>	20-30	27.2	28-34	31.8	72-93	80.6	61-92	77.9	70-93	81.3	6
October 2005 <i>Octobre 2005</i>	20-26	23.8	23-32	27.8	59-91	71.7	56-85	64.1	59-85	74.9	11

The other food plants are, however, either less frequently or rarely used for rearing muga worms, that too during acute shortage and scarcity of the primary food.

Litsea glutinosa Lour., belonging to the family Lauraceae has been observed by the authors to be extensively used by the rearers of Garo Hills district of Meghalaya (India) for producing commercial muga cocoons when primary food (Som and Soalu) remain unavailable. The species locally known as Bodokaki (in Garo) and Laham (in Assamese) is adapted to a wide range of altitudes starting from 30m ASL to 1000m ASL. In India the luxuriant populations of the species are found in moist forests of all the North-East States, Orissa, Central India and Uttaranchal. The plant is a medium sized tree with slimy grey or pale brown thin bark having medicinal properties. The branchlets are stiff, slender and minutely tomentellous towards apex. Leaves are spirally arranged, very variable in size (7-15 × 3-7 cm), usually oblong-oval or elliptic, shortly acuminate or obtuse with acute base and are chartaceous to stiffly chartaceous besides finely areolate-reticulate above and glabrous.

Excepting for a few reports (Sengupta and Srivastava, 1995; Thangavelu, 2004) that *Litsea glutinosa* Lour., is a probable muga host plant found in Uttaranchal (India), no studies are available in literature as regards to its performance as a designated food plant of muga silkworm. Therefore, present study was undertaken keeping this thing in mind.

MATERIALS AND METHODS

The nature grown, mature seedlings of *Litsea glutinosa* Lour., (Bodokaki) were retrieved from the forests of Garo Hills, Meghalaya (India) and transplanted in the experimental field of RMRS, Boko, Kamrup (Assam), India. The seedlings were duly allowed to establish for one year. After then, during the months of September-October, 2005 (Kotia crop season in Assamese muga calendar), the muga worms from 1 dfl were released and brushed on these plants.

Table II. Rearing performance of muga silkworms after feeding on different food plants.

Tableau II. Performance d'élevage des vers à soie muga alimentés sur différentes plantes hôtes.

Characteristics <i>Caractéristiques</i>	<i>Litsea glutinosa</i> (BODOKAKI)	<i>Persea bombycina</i> (SOM)	<i>Litsea polyantha</i> (SOALU)
Larval period (days) / <i>Durée larvaire (jours)</i>	26	22	23
ERR (%)	45	65	60
Mature larval weight (g) / <i>Poids larvaire mûr (g)</i>			
Male / <i>Mâle</i>	9.45	10.65	9.62
Female / <i>Femelle</i>	12.14	15.10	12.32
Average / <i>Moyenne</i>	10.79	12.87	10.97

Simultaneously, the muga worms from 1 dfl each were also brushed on the plants of similar age group of *Persea bombycina* Kost., (Som) and *Litsea polyantha* Juss., (Soalu). The rearing of worms was conducted completely outdoors under natural climatic conditions prevailing during the course of study (Table I).

The data concerning bio-assay were recorded for various rearing aspects, analysis of cocoons and grainage performance. These included, ERR% (effective rate of rearing), larval period (days), mature larval weight (g), cocoon weight (g), shell weight (g), shell ratio (%), floss (%), cocoon length and breadth (cm), cocoon colour, pupal weight (g), pupal length and breadth (cm), moth weight (g), pupal period (days), grainage period (days), coupling (%), eggs per gram (no.), egg weight (g) and hatching (%).

RESULTS AND DISCUSSION

The rearing performance of the muga silkworms fed on Bodokaki, Som and Soalu given in Table II indicates that worms fed on Bodokaki exhibit a prolonged larval period of 26 days as against 22 days and 23 days in Som and Soalu respectively. This is, however, attributed as observed to be due to sluggish, less crawling and more resting behaviour of worm on the Bodokaki while search for food. The average larval weight though observed to be more than 10 g in all the food plants, the ERR exhibited was, however, 45% in Bodokaki as against 65% and 60% in Som and Soalu respectively.

The values for various cocoon characteristics given in Table III show that the Bodokaki fed cocoons are smaller in size, lighter in weight with low shell weight, and have less silk ratio % content than Som and Soalu. Further, the colour of cocoons obtained from Bodokaki stood dirty white as against usual brown and golden brown coloured in Som and Soalu. The cocoon productivity with 45% ERR of muga silkworms fed on *L. glutinosa*, though falling within the prescribed cocoon productivity range of 45-50 cocoons per dfl for Kotia season (Sahu, 2005) may not be accepted commercially in light of the comparatively low expression of other economically important cocoon characters such as shell weight of only 0.23 g and shell ratio of 5.69% only. These values being much below than the prescribed values of 0.70 g shell weight and 8.75% shell ratio (Misra, 2000) for Kotia season commercial cocoons.

The grainage performance of the muga silkworms after feeding on Bodokaki, Som and Soalu is given in Table IV. The observation indicates that, though the pupal weight, pupal size and the moth weight are low in Bodokaki, there had been no difference between the pupal period and grainage period between Bodokaki and Som. Further no difference in the coupling efficiency was observed in the moths from these food plants. However, with a very less potential fecundity of only 120 eggs/moth as against 236 eggs and 196 eggs in Som and Soalu respectively, the Bodokaki fed moths realized a fecundity of 119 eggs/moth thereby exhibiting an efficient oviposition index of 99% as against 73% in both Som and Soalu. Interestingly, with a similar egg weight and number of eggs per gram as that of in Soalu, the eggs obtained from Bodokaki fed moths showed a good hatchability (92%) than Soalu (72%) with a similar period of incubation of 9 days each. These observations are therefore suggestive of the fact that *L. glutinosa* has the scope of using it as a potential muga food plant for seed crop rearings like *L. polyantha*.

The fact that commercial characters in muga silkworm vary seasonally, regionally and between different food plants is well established (Yadav and Goswami, 1989). Selection affinity of the specific plant proteins and some other attractive substances such as glucosides, essential oils, alkaloids, saponins, tannins etc provide odour and taste to insect and pests (Hamamura *et al.*, 1962; Nair *et al.*, 1982), which is true for muga silkworm also (Unni, 1996).

Table III. Analysis of Muga silkworm cocoons fed on different food plants.

Tableau III. Analyse des cocons du ver à soie muga nourris sur différentes plantes hôtes.

Characteristics	<i>Litsea glutinosa</i> (BODOKAKI)			<i>Persea bombycina</i> (SOM)			<i>Litsea polyantha</i> (SOALU)		
	Male	Female	Average	Male	Female	Average	Male	Female	Average
<i>Caractéristiques</i>	<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	<i>Moyenne</i>
Cocoon weight (g) <i>Poids du cocon (g)</i>	3.71	4.62	4.16	5.04	6.66	5.85	4.00	5.89	4.95
Shell weight (g) <i>Poids de la coque (g)</i>	0.23	0.24	0.23	0.43	0.52	0.47	0.36	0.43	0.39
Shell ratio (%) <i>Richesse soyeuse (%)</i>	6.19	5.19	5.69	8.53	7.80	8.16	9.00	7.30	8.15
Floss (%) <i>Blaze (%)</i>	1.50	3.25	2.37	1.25	2.25	1.75	2.00	3.50	2.75
Cocoon length (cm) <i>Longueur du cocon (cm)</i>	3.85	4.26	4.05	4.30	5.02	4.66	4.25	4.65	4.45
Cocoon breadth (cm) <i>Largeur du cocon (cm)</i>	1.82	1.97	1.89	1.95	2.27	2.11	1.95	2.20	2.07
Cocoon colour <i>Couleur du cocon</i>	Dirty white <i>Blanc sale</i>			Light brown <i>Marron clair</i>			Light golden brown <i>Marron doré clair</i>		

Table IV. Grainage performance of the Muga silkworms fed on different food plants.

Tableau IV. Performance de grainage des vers à soie muga nourris sur différentes plantes hôtes.

Characteristics Caractéristiques	<i>Litsea glutinosa</i> (BODOKAKI)	<i>Persea bombycina</i> (SOM)	<i>Litsea polyantha</i> (SOALU)
Pupal weight (g) / Poids de la nymphe (g)			
Male / Mâle	3.48	4.61	3.64
Female / Femelle	4.38	6.14	5.46
Average / Moyenne	3.93	5.37	4.55
Pupal length (cm) / Longueur de la nymphe (cm)			
Male / Mâle	3.17	3.53	3.60
Female / Femelle	3.70	4.30	3.85
Average / Moyenne	3.43	3.91	3.72
Pupal breadth (cm) / Largeur de la nymphe (cm)			
Male / Mâle	1.42	1.30	1.53
Female / Femelle	1.65	1.90	1.65
Average / Moyenne	1.53	1.60	1.59
Moth weight (g) / Poids du papillon (g)			
Male / Mâle	1.00	1.54	1.24
Female / Femelle	2.07	5.46	3.56
Average / Moyenne	1.53	3.50	2.40
Pupal period (days) Durée nymphale (jours)	19	19	21
Grainage period (days) Durée du grainage (jours)	4	4	5
Coupling (%) / Accouplement (%)	100	100	100
Fecundity (nos) / Fécondité (nbre)			
Realized / obtenue	119	174	144
Potential / potentielle	120	236	196
Oviposition index (%) Indice de ponte (%)	99	73	73
No. of eggs per gram Nbre d'oeufs par gramme	152	142	153
100 egg weight (g) Poids de 100 oeufs (g)	0.66	0.70	0.66
Incubation period (days) Durée d'incubation (jours)	9	10	9
Hatchability (%) Capacité d'éclosion (%)	92	90	72

REFERENCES

- BARAH A., ISA MD., DEVNATH M. AND SAMSON M.V. (1992) A new host plant of the muga silkworm, *Antheraea assamensis* Ww. *Sericologia*, 32 (3), 529-530.
- BINDROO B.B., SINGH N.T., SAHU A.K. AND CHAKRAVORTY R. (2006) Muga silkworm host plants. *Indian Silk*, 44 (12), 13-17.
- CHAKRAVORTY R. (2004) Diversity of muga and eri sericulture and its prospects in himalayan states. *Proc: Nat. Work. Pot. Str. Sus. Dev.*, Directorate of Sericulture, Govt. of Uttaranchal, p. 9-16.
- CHOWDHURY S.N. (1982) Muga Silk Industry. Directorate of Sericulture, Govt. of Assam, p. 19-27.
- CHOWDHURY S.N. (2005) Host plant species of non-mulberry (vanya) silkworms. *Proc: Work. Str. Non. Mul. Germ. Main.*, CMER&TI, Jorhat, Assam, p. 50-54.
- MISRA S.N. (2000) Muga silk reeling technology. *Proc: Work. Dev. Muga. Eri. Silk Ind. Imp. Tech.*, 13-14 June., UNDP-PSKK-RDO CSB, North Lakhimpur, Assam, P. 32-36.
- NAIR K.K., ANANTHAKRISHNAN T.N. AND DAVID B.Y. (1982) *Insects and host plants (General and Applied Entomology)*, Tata Mc Graw Hills Pub. Co.Ltd. New Delhi.
- SAHU M. (2005) Pests of muga silkworm and their management. *Proc: Work. Disease. Pests. Forwarning Sys. Muga. Silkorm and Host Plant.*, 5th Dec. CMER&TI, Jorhat, Assam, p. 23-26.
- SENGUPTA A.K. AND SRIVASTAVA A.K. (1995) Muga – new strides. *Indian Silk*, 34 (2), 28-32.
- SINGHA B.B. AND DAS P.K. (1999) New host plants of muga silkworm *Antheraea assama* Ww. *Sericologia*, 39 (2), 333-334.
- THANGAVELU K., CHAKRAVORTY A.K., BHAGOWATI A.K. AND ISA MD. (1980) *Hand Book of Muga Culture*. Central Silk Board, Bangalore, p. 9-14.
- THANGAVELU K. (2004) Host plant wealth of vanya silks in Himalayan states and strategies for its utilization. *Proc: Nat. Work. Pot. Str. Sus. Dev.*, Directorate of Sericulture, Govt. of Uttaranchal, p.1-8.
- UNNI B.G. (1996) Amino acid analysis of cocoons of *Criculla trifenestrata*, a pest of the *Antheraea assama* host plant, *Machilus bombycina*. *Sericologia*, 36 (1), 173-175.
- YADAV G.S. AND GOSWAMI B.C. (1989) Correlation and regression studies between cocoon weight and shell weight of muga silkworm on two different food plants. *Sericologia*, 29 (2), 219-224.

LITSEA GLUTINOSA LOUR., UNE NOUVELLE PLANTE HÔTE DU VER À SOIE MUGA (*ANTHERAEA ASSAMENSIS* HELPER.,)

BHARAT B. BINDROO*, N. TIKEN SINGH & A. K. SAHU

Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup, Assam — 781 123, Inde.

On a évalué la performance de *Litsea glutinosa* Lour., (connue localement sous le nom de Bodokaki) comme nouvelle plante hôte du ver à soie muga (*Antheraea assamensis* Helfer.,) par rapport à différents critères d'élevage, dont l'analyse du cocon et la performance de grainage par rapport à deux plantes hôtes principales du muga, c'est-à-dire *Persea bombycina* Kost. (connue localement sous le nom de Som) et *Litsea polyantha* Juss. (connue localement sous le nom de Soalu) pendant la saison de récolte Kotia (septembre – octobre 2005). On a enregistré les données pour le taux effectif d'élevage (%), la durée larvaire (jours), le poids de la larve mûre (g), le poids du cocon (g), le poids de la coque (g), la richesse soyeuse (%), la blaze (%), la longueur et la largeur du cocon (cm), le poids du papillon (g), la durée nymphale (jours), la durée de grainage (jours), l'accouplement (%), les œufs par grammaire (nbre), le poids de l'œuf et l'éclosion (%). Les valeurs pour les différentes caractéristiques du cocon montrent que les cocons nourris avec *L. glutinosa* sont de plus petite taille, de poids plus faible, avec un poids de coque plus faible et une teneur moins importante en soie qu'avec *P. bombycina* et *L. polyantha*. La productivité en cocons avec un ERR de 45 % sur *L. glutinosa*, bien qu'elle se classe dans la fourchette de productivité des cocons de 45 à 50 cocons / ponte saine pour la récolte Kotia pourrait ne pas être acceptable commercialement à la lumière des valeurs comparativement faibles obtenues pour le poids de la coque et pour la richesse soyeuse. Cependant, on n'observe aucune différence de durée larvaire et de durée du grainage par rapport à *P. bombycina* et aucune différence d'efficacité de l'accouplement par rapport à *P. bombycina* et à *L. polyantha*, et *L. glutinosa*, en tant que nouvelle plante hôte du muga, présente un indice de ponte efficace et plus élevé de 99 % avec une durée d'incubation similaire (9 jours) et une capacité d'éclosion aussi bonne que celle de *P. bombycina* et de *L. polyantha*. L'espèce pourrait donc être utilisée comme nourriture potentielle pour les élevages de grainage du muga.

INTRODUCTION

Le ver à soie muga (*Antheraea assamensis* Helfer.,), un insecte séricigène polyvotiv est couramment élevé à l'extérieur dans le nord-est de l'Inde pour obtenir la soie muga unique de couleur jaune doré. Comme il est polyphage, il se nourrit sur une grande variété de plantes hôtes (Choudhury, 1982 ; Thangavelu et coll., 1988 ; Barha et coll., 1992 ; Singha et Das, 1999 ; Chakravorty, 2004 ; Choudhury, 2005). On a signalé jusqu'à 28 espèces de plantes avec leurs synonymes (Bindroo et coll., 2006) qui sont devenues hôtes du ver à soie muga et appartiennent principalement à la famille des Lauraceae, avec également des représentants des Rutaceae, des Rhamnaceae, des Celastraceae, des Magnoliaceae, des Verbanaceae, des Asclepiadaceae, des Styrraceae, de Annonaceae et des Apocynaceae.

* Adresse actuelle / de correspondance : Regional Sericultural Research Station, CSB Complex, Miransahib, 181 101, Jammu, Inde (email : bindroobb@gmail.com)

Cependant, parmi elles, les espèces de plantes, *Persea bombycina* Kost. (connue localement sous le nom de Som) et *Litsea polyantha* Juss., (connue localement sous le nom de Soalu) qui appartiennent à la famille commune des Lauraceae, forment la nourriture principale d'*A. assamensis* Helfer et sont principalement utilisées par les fermiers de la région pour produire des cocons de soie muga. Les autres plantes hôtes sont soit moins fréquemment ou rarement utilisées pour l'élevage des vers muga, et cela également en cas de manque aiguë et de rareté de la nourriture primaire.

Les auteurs ont observé que *Litsea glutinosa* Lour, qui appartient à la famille des Lauraceae, a beaucoup été utilisée par les éleveurs de la zone des collines Garo de Meghalaya (Inde) pour produire des cocons muga commercialisés quand la nourriture primaire (Som et Soalu) n'est pas disponible. Les espèces connues localement sous le nom de Bodokaki (dans le Garo) et de Laham (dans l'Assam) sont adaptées à une grande variété d'altitudes à partir de 30 m jusqu'à 1000 m au-dessus du niveau de la mer. En Inde, on trouve les populations luxuriantes de l'espèce dans les forêts humides de tous les états du nord-est, de l'Orissa, du centre de l'Inde et de l'Uttaranchal. La plante est un arbre de taille moyenne avec une écorce grise ou marron pâle qui a des vertus médicinales. Les rameaux sont raides et élancés. Les feuilles sont disposées en spirale, de taille très variable (7 à 15 × 3 à 7 cm), habituellement oblongues / ovales ou elliptiques, légèrement acuminées ou épointées avec une base pointue et ressemblent à du papier ou à du papier raide tout en étant finement réticulées au-dessus et glabres.

À l'exception de quelques rapports (Sengupta et Srivastava, 1995 ; Thangavelu, 2004) selon lesquels *Litsea glutinosa* Lour est une plante hôte probable du muga que l'on trouve dans l'Uttaranchal (Inde), aucune étude n'est disponible dans la littérature concernant sa performance comme plante hôte désignée du ver à soie muga. Cette étude a donc été entreprise compte tenu de cela.

MATERIELS ET METHODES

On s'est procuré des jeunes plants matures de *Litsea glutinosa* Lour., ayant poussé naturellement dans les forêts des Collines Garo, dans le Meghalaya en Inde et on les a transplantés sur le terrain expérimental du RMRS de Boko, à Kamrup (Assam) en Inde. On a laissé les jeunes plants s'établir en temps voulu pendant un an. Après cela, on a levé les vers muga d'une ponte saine et on les a montés sur ces plants pendant les mois de septembre—octobre 2005 (saison d'élevage Kotia dans le calendrier muga assamais.)

Simultanément, on lève aussi des vers muga provenant chaque fois d'une ponte saine sur des plants de *Persea bombycina* Kost., (Som) et de *Litsea polyantha* Juss., (Soalu) de la même tranche d'âge. On procède à l'élevage des vers complètement à l'extérieur dans les conditions climatiques naturelles présentes au cours de l'étude (Tableau I).

On enregistre les données concernant l'évaluation biologique pour plusieurs aspects de l'élevage, pour l'analyse des cocons et pour la performance de grainage. Elles comprennent le % ERR (taux effectif d'élevage), la durée larvaire (jours), le poids larvaire mûr (g), le poids du cocon (g), le poids de la coque (g), la richesse soyeuse (%), la blaze (%), la longueur et la largeur du cocon (cm), la couleur du cocon, le poids nymphal, la longueur et la largeur de la nymphe (cm), le poids du papillon (g), la durée nymphale (jours), la durée de grainage (jours), l'accouplement (%), les œufs par gramme (nbre), le poids de l'œuf (g) et l'éclosion (%).

RESULTATS ET DISCUSSION

La performance des vers à soie muga nourris sur Bodokaki, Som et Soalu présentée dans le Tableau II indique que les vers nourris sur Bodokaki présentent une durée larvaire prolongée de 26 jours, contre 22 et 23 jours respectivement avec Som et Soalu. Cependant, d'après les observations, on attribue cela au comportement léthargique intégrant moins de déplacements et plus de repos des vers sur Bodokaki lors de la recherche de nourriture. Bien qu'on observe que le poids larvaire moyen

soit supérieur à 10 g avec toutes les plantes hôtes, l'ERR est de 45 % avec Bodokaki contre 65 % et 60 % respectivement chez Som et Soalu.

Les valeurs pour des caractéristiques variées du cocon présentées dans le Tableau III montrent que les cocons nourris avec Bodokaki sont de taille plus petite, de poids plus léger avec un poids de coque faible et ils ont une richesse soyeuse plus faible qu'avec Som et Soalu. De plus, les cocons obtenus avec Bodokaki sont blanc sale tandis qu'avec Som et Soalu ils sont marron et marron doré. La productivité en cocons avec 45 % d'ERR pour les vers à soie muga nourris sur *L. glutinosa*, bien qu'elle se classe dans la fourchette recommandée de productivité des cocons de 45 à 50 cocons par ponte saine pour la saison Kotia (Sahu, 2005), pourrait ne pas être acceptable sur le plan commercial compte tenu des valeurs comparativement basses pour d'autres caractères importants du cocon sur le plan économique, tels que le poids de la coque de seulement 2,3 g et la richesse soyeuse de seulement 5,69 %. Ces valeurs étant bien en dessous des valeurs recommandées de 0,70 g pour le poids de la coque et de 8,75 % pour la richesse soyeuse (Misra, 2000) pour les cocons commerciaux de la saison Kotia.

La performance de grainage des vers à soie muga après les avoir nourris sur Bodokaki, Som et Soalu est présentée dans le Tableau IV. Les observations indiquent que, bien que le poids de la nymphe, la taille de la nymphe et le poids du papillon soient faibles chez Bodokaki, il n'y a pas de différence pour la durée nymphale et pour la durée de grainage entre Bodokaki et Som. De plus, on n'observe aucune différence pour l'efficacité d'accouplement chez les papillons obtenus à partir de ces plantes hôtes. Cependant, avec une fécondité potentielle bien inférieure de 120 œufs / papillon contre 236 œufs et 196 œufs respectivement avec Som et Soalu, les papillons nourris avec Bodokaki donnent une fécondité de 119 œufs / papillon, ce qui montre un indice de ponte particulier de 99 % contre 73 % à la fois avec Som et Soalu. De manière intéressante, avec un poids d'œuf et un nombre d'œufs par gramme similaires à ceux de Soalu, les œufs obtenus à partir de papillons nourris avec Bodokaki présentent une bonne capacité d'éclosion (92 %) par rapport à Soalu (72 %) avec une période similaire d'incubation de 9 jours chacun. Ces observations suggèrent donc que *L. glutinosa* pourrait être utilisée comme plante hôte potentielle du muga dans les élevages de grainage de la même manière que *L. polyantha*.

C'est un fait que les caractères commerciaux du ver à soie muga varient de manière saisonnière, régionalement et entre les différentes plantes hôtes (Yadav et Goswami, 1989). Il existe une affinité sélective pour les protéines spécifiques des plantes et pour d'autres substances attirantes telles que les glucosides, les huiles essentielles, les alcaloïdes, les saponines, les tannins qui ont une odeur et un goût pour les insectes et les parasites (Hamamura et coll., 1962 ; Nair et coll., 1982), ce qui est également vrai pour les vers à soie muga (Unni, 1996).

STUDIES ON METHODS ADOPTED IN WINDING OF BIVOLTINE AND MULTIBIVOLTINE RAW SILK AND ITS INFLUENCE ON TENACITY AND ELONGATION

K. M. ABDUL KADHAR¹*, DR. G. HARIRAJ¹, SUBRATA ROY² AND DR. T. H. SOMASHEKAR²

1. Silk Conditioning and Testing House, Central Silk Technological Research Institute, Kancheepuram, India.

2. Central Silk Technological Research Institute, Bangalore, India.

Raw silk winding is the first and foremost important preparatory process in handloom silk weaving. Much emphasis is given for this preparatory process as winding speed and winding tension play a vital role in deciding the tenacity and elongation properties of raw silk. In this study, winding performance, winding tension at constant winding speed, of imported bivoltine raw silk and Indian multibivoltine raw silk on three different types of winding systems, being adopted in the field, is compared in terms of tenacity and elongation properties. It is found that multibivoltine raw silk performs significantly better when compared to bivoltine raw silk and this phenomenon can be attributed to higher content of sericin in multibivoltine silk which absorb severe stress that occurs in one of the winding systems.

Keywords: Bivoltine, Multibivoltine, Raw silk, Tenacity, Elongation.

INTRODUCTION

Winding of raw silk is the preparatory process for twisting. It is nothing but unraveling the raw silk from the skein and wound on to the bobbin using a winding machine, which is capable of running at different winding speeds and equipped with traverse motion besides driving the bobbin at a uniform angular speed. The swift used is automatic self-centering with collapsible steel wire hubs. The bobbin is smooth and well balanced so as to run at uniform winding tension.

The winding speed and tension play a major role in deciding the tenacity and elongation quality of the raw silk (Kim, 1964). Presence of gum spot and absence of diamond-crossing in skein results in uneven tension during winding. The speed of winding is adjusted based on the yarn denier. Proper weightening of reel / swift (Dead weight) is ensured to have uniform tension during winding. The swift / reel is properly balanced to prevent drag on one side and friction free movement to unwind the silk with lesser force.

One of the major handloom weaving clusters, which uses imported bivoltine raw silk, seldom adopts normal winding method instead uses two types of reverse winding. All the three winding systems are depicted in Figure 1. In the normal system of winding as shown in Fig. 1 (a), the silk yarn, in hank form, from the freely rotating swift / reel (S) is first taken through thread guide (G) fitted on the traverse motion mechanism and then over to negatively driven bobbin (B). Uniform winding tension is ensured by proper weightening of swift/ reel (S) with dead weight (D) and the swift / reel rotates in clockwise direction.

In the reverse winding with steel wire (Diameter: 1.1mm), thread from the freely rotating swift (S), is first taken over a steel wire (W), mounted just beneath the swift, which run across the width

* Author to whom correspondence may be addressed

of the machine and then through thread guide (G) fitted on the traverse motion mechanism and then finally on to bobbin (B) as shown in Figure 1 (b). In the reverse winding the silk yarn from the freely rotating swift / reel (S) is first taken through thread guide (G) fitted on the traverse motion mechanism, then over to negatively driven bobbin (B), then again taken through the thread guide (G) and then over to bobbin (B) as shown in Figure 1 (c). It is evident from the Figures 1 (b) & (c), that the uniform winding tension is ensured not because of weightening of the swift / reel (S) with Dead Weight (D) instead with the type of thread passage itself. In both the cases, the swift / reel rotates in anti-clockwise direction.

In the field, normal winding method is adopted only for the Indian multibivoltine raw silk, which is available in the weight range of 60g ~ 80g, because the silk twister has the wisdom of proper weightening of reel/ swift (Dead weight). Thus, the tension during winding remains almost constant and well within the limits till the raw silk skein exhausts; that ensure compact and well built bobbins, which is a must for post winding process. Imported bivoltine raw silk, which is available in the weight range of 180g ~ 200g and the silk twister doesn't have the dexterity of proper weightening of the reel/ swift. Thus, the tension during initial period of winding is more, which results in breakage of raw silk and the tension at the time of exhaustion of skein, is less, which results in loose and improper built bobbins. When these loose built bobbins are used for warp preparation, imported bivoltine raw silk is predominantly used as singles (thread) in warp meant for the manufacturing of kora silk saree, wastage will be more due to slough-off. Thus, the field based on its experience, resorted to two different methods of reverse winding so as to reduce the winding breaks and slough-off in order to minimize the wastage during weaving preparatory.

In view of the above, a study has been conducted to assess the influence of three different methods of winding viz., normal, reverse with steel wire, reverse system on the tensile characteristics of imported bivoltine and Indian multibivoltine raw silk.

MATERIALS AND METHODS

Material:

Commercially available 18/20 denier imported bivoltine raw silk and Indian multibivoltine raw silk lots (five lots each per variety), comprising 5 skeins per lot, were considered for the study. The winding machine, having 25 heads per side, which runs at a surface speed of 140 m/min, was fitted with necessary steel wire to replicate the reverse system of winding with steel wire. Reverse winding without steel wire could easily be reproduced, as this requires only change in thread passage as shown in Figure 1 (c).

Experimental Design:

Normal winding was carried out for first 20 minutes for all the five lots of 5 skeins each and thus 25 bobbins with sufficient silk were produced. Then, reverse system of winding was carried out for 20 minutes and 25 bobbins were produced. Finally reverse system of winding with steel wire was carried out for 20 minutes. Thus, a total of 75 bobbins per variety of silk viz. imported bivoltine raw silk and Indian multibivoltine raw silk were prepared for the study by subjecting each skein for one hour winding. During winding of raw silk, tension at various thread passage was recorded using portable tension meter. The variations/ fluctuations of winding tension were also recorded to rationalize the impact of the thread passage on winding tension particularly in the case of reverse winding system with steel wire.

Small skein (Kilcha) having 225 meters length was prepared from each bobbin by winding the raw silk using wrap reel or Skeining machine (Abdul Kadhar, 1991). The winding was carried out randomly at different places viz. inner, middle and outer layer of the bobbin to ensure representative sample. Thus, 75 Kilchas each were prepared for both imported bivoltine raw silk and Indian multibivoltine raw silk to carry out tenacity and elongation test after conditioning the test sample at standard atmospheric condition.

Serigraph tester, Tokyo Sangyo: Model TSS-30-S was used to measure the tenacity and elongation. This instrument works under constant rate of traverse and the test was carried out as per the procedure stipulated in BIS: 15090:2002. The test results, tenacity and elongation, were statistically analyzed for their significance (Henry Garrett *et al.*, 1965).

Also five samples skeins of 10 g each for the three winding system were prepared to ascertain the degumming loss % for both imported bivoltine silk and Indian multibivoltine silk. The degumming was carried out using standard neutral soap and soda method prescribed for the mulberry silk. The test results, Degumming %, were statistically analyzed for its significance (Henry Garrett *et al.*, 1965).

RESULTS AND DISCUSSION

Winding tension fluctuations:

It is evident from the Table I that there is no significant difference in the winding tension between the methods of winding adopted for both Indian multibivoltine and imported bivoltine raw silk. The winding tension values in all cases viz. "T" (tension during normal winding), "Tw" (tension during Reverse winding with wire) and "Tr" (Tension during reverse winding), were well within the limits, 5 ~ 7 grams (Somashekar, 2001), but abnormal fluctuation observed in the case of reverse winding system with steel wire.

Table I. Influence of different winding methods on winding tension of raw silk.

Tableau I. Influence des différentes méthodes de dévidage sur la tension de dévidage de la soie grège.

Parameter	Tension (grams)					
	Bivoltine silk			Multibivoltine silk		
	Normal	Reverse wire*	Reverse	Normal	Reverse wire*	Reverse
Paramètre	Tension (g)					
	Soie bivoltine			Soie polybivoltine		
	Normal	Fil de fer inversé*	Inversé	Normal	Fil de fer inversé*	Inversé
Sample size (N)	20	20	20	20	20	20
Taille de l'échantillon						
Mean / Moyenne (X)	6.00	6.20	5.95	5.95	6.25	6.00
Std. Deviation (d)	0.46	0.52	0.39	0.60	0.44	0.46
Std. Error / Ecart type	0.103	0.116	0.087	0.134	0.098	0.103
SE Diff wrt NORMAL		0.16	0.13		0.17	0.17
t « wrt NORMAL »		1.29	0.37		1.80	0.30

* Sudden fluctuations in winding tension / Fluctuations soudaines de la tension de dévidage.

« t » values are not significant even at 5% / Les valeurs « t » ne sont pas significatives même au seuil de 5 %.

wrt: with respect to / par rapport à.

$SE = \frac{SD}{\sqrt{N}}$ SD- Standard deviation of sample / Ecart type de l'échantillon. N- Sample size/ Taille de l'échantillon.

Table II. Influence of different winding method on tenacity of raw silk.**Tableau II. Influence de différentes méthodes de dévidage sur la résistance de la soie grège.**

Parameter	(a) Tenacity (grams / denier)					
	Bivoltine silk			Multibivoltine silk		
Normal	Normal	Reverse wire	Reverse	Normal	Reverse wire	Reverse
Paramètre	(a) Ténacité (grammes / titre)					
	Soie bivoltine			Soie polybivoltine		
	Normal	Fil de fer inversé	Inversé	Normal	Fil de fer inversé	Inversé
Sample Size (N) <i>Taille de l'échantillon</i>	25	25	25	25	25	25
Mean (X) / <i>Moyenne (X)</i>	3.73	3.60	3.69	3.59	3.56	3.58
Std. Deviation (d)	0.13	0.10	0.11	0.09	0.08	0.07
Std error / <i>Ecart type</i>	0.026	0.020	0.022	0.018	0.016	0.014
SE Difference wrt NORMAL		0.03	0.03		0.02	0.02
t "wrt NORMAL"		3.96*	1.17		1.25	0.44

wrt: with respect to / *par rapport à*.* Significant at 1% / *Significatif au seuil de 1 %*.**Tenacity and Elongation:**

It is evident from Tables II & III that the tenacity and elongation of bivoltine raw silk significantly deteriorated in reverse winding system with steel wire, when compared to normal method of winding. Whereas, Indian multibivoltine did not exhibit significance deterioration of tenacity and elongation property of raw silk, as noticed in imported bivoltine raw silk reverse system of winding with steel wire and found to withstand severe stress due to abnormal winding tension fluctuation.

Literature (Kim, 1964) reveals that the tenacity and elongation of raw silk is greatly influenced by the winding tension and speed respectively. In this study, the thread passage, reverse system of winding with steel wire, which results in instant fluctuation in winding tension, seems to influence the tenacity and elongation property of raw silk in the case of imported bivoltine raw silk.

Degumming loss:

This study supplements the earlier findings that the Indian multibivoltine raw silk contains more sericin, in terms of constituent percentage, when compared to the imported bivoltine raw silk (Table IV). This phenomenon gives an edge to the multibivoltine raw silk to withstand severe stress due to fluctuation in winding tension. Unlike sericin, which is nothing but a sheath of coating, the tenacity property of raw silk is precisely described by the fibroin.

Table III. Influence of different winding methods on elongation of raw silk.

Tableau III. Influence de différentes méthodes de dévidage sur l'allongement de la soie grège.

Parameter	(b) Elongation (%)					
	Bivoltine silk			Multibivoltine silk		
	Normal	Reverse wire	Reverse	Normal	Reverse wire	Reverse
Paramètre	(b) Allongement (%)					
	Soie bivoltine			Soie polybivoltine		
	Normal	Fil de fer inversé	Inversé	Normal	Fil de fer inversé	Inversé
Sample size (N)	25	25	25	25	25	25
Taille de l'échantillon (N)						
Mean / Moyenne (X)	17.80	16.72	17.60	17.08	16.76	16.8
Std. Deviation (d)	0.82	0.94	0.71	0.76	0.83	0.73
Std. Error / Ecart type	0.164	0.188	0.142	0.152	0.166	0.146
SE Difference wrt NORMAL		0.25	0.22		0.23	0.21
t « wrt NORMAL »		4.33*	0.92		1.42	0.95

* Significant at 1% / Significatif au seuil de 1 %. wrt: with respect to / par rapport à.

Table IV. Comparison of degumming loss of bivoltine and multibivoltine raw silk.

Tableau IV. Comparaison de la perte au décreusage entre la soie grège bivoltine et polybivoltine.

Parameter	(c) Degumming loss (%)					
	Bivoltine silk			Multibivoltine silk		
	Normal	Reverse wire	Reverse	Normal	Reverse wire	Reverse
Paramètre	(c) Perte au décreusage (%)					
	Soie bivoltine			Soie polybivoltine		
	Normal	Fil de fer inversé	Inversé	Normal	Fil de fer inversé	Inversé
Sample size (N)	5	5	5	5	5	5
Taille de l'échantillon (N)						
Mean / Moyenne (X)	23.68	23.64	23.52	28.66	28.58	28.60
Std. Deviation (d)	0.22	0.42	0.08	0.27	0.38	0.55
Std. Error	0.098	0.188	0.036	0.121	0.170	0.246
SE Difference wrt NORMAL		0.21	0.10		0.21	0.27
t "wrt wdg system"		0.19	1.53		0.38	0.22
t " wrt "bivoltine "				31.97*	19.50*	20.44*

* Significant at 1% / Significatif au seuil de 1 %. wrt: with respect to / par rapport à. wdg: winding / dévidage.

REVERSE



Fig. (iii)

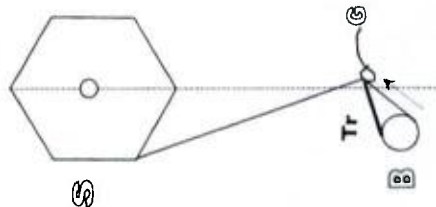


Fig. (c)

REVERSE WIRE

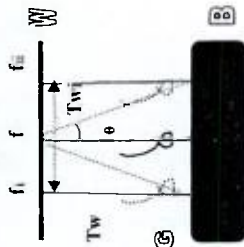


Fig. (ii)

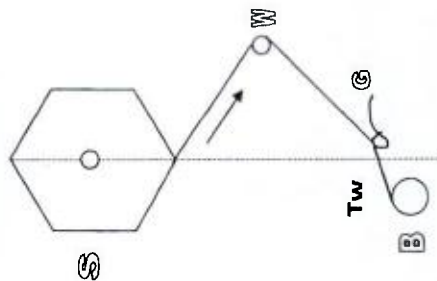


Fig. (b)

NORMAL



Fig. (i)

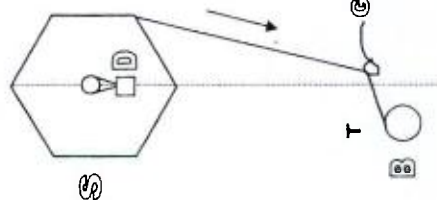


Fig. (a)

Fig. 1. Winding of raw silk using different methods adopted in the field.

Fig. 1. *Dévidage de la soie grège en utilisant différentes méthodes adoptées sur le terrain.*

B—Bobbins / Bobine. D—Dead weight / Poids mort. G—Thread guide / Passe fil. S—Swift / Dévidoir. W—Steel wire / Fil de fer.

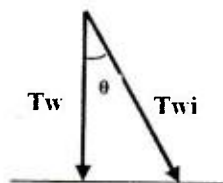
DISCUSSIONS

The winding tension (T_w), in the case of reverse winding with steel wire, is a factor of four variables viz., the angular speed of the bobbin, friction between the steel wire & raw silk, weightening of the skein (Dead weight) and the friction of swift at the collar housing (Metal to metal friction). These variables are not probed further as the resultant tension during winding (reverse method of winding with steel wire) is well within the limits (5~7g). During winding, if the silk yarn at point "f", as shown in Figure 1 (ii) traverse along with the traverse guide (G) from "fi" to "fii", the winding tension (T_w) seems to be uniform and there is no fluctuation throughout the winding. If the silk yarn is fulcrum at point "f" and the thread guide (G) moves to any extreme end of the bobbin by inflicting the deflection of thread passage, represented by the vector T_{wi} , with an angle of deflection θ with respect to its normal thread passage, represented by the vector T_w , as shown below, results in sudden increase in winding tension. The angle of deflection (θ), in this type of set up, ranges from 0° to 30° . Thus we can deduce the formula:

$$T_w = T_{wi} \times \cos\theta$$

$$T_{wi} = \frac{T_w}{\cos\theta}$$

where $\theta = 0^\circ$ to 30°



It is evident from the above formula that, when the silk is not fulcrum, ($\theta = 0$), then the T_{wi} is equal to T_w , ($\cos 0^\circ = 1$). It is also evident that the maximum fluctuation is 15.5 % of normal winding tension ($\cos 30^\circ = 0.866$) and the said fluctuations seems to affect the fibroin in the case of imported bivoltine silk. In other two systems of winding as shown in Figures 1 (i) & (iii), the winding tension seems to be uniform.

CONCLUSION

The thread passage, in this case steel wire, plays a decisive role in hampering the tenacity and elongation property of imported bivoltine raw silk. The field practice, reverse system of winding with steel wire significantly deteriorates raw silk tenacity and elongation, hence, to be discontinued.

Also, this study finding shall pave way to initiate further in depth research on imported and Indian bivoltine raw silk to document the influence of tension variation / fluctuation on tenacity and elongation properties.

REFERENCES

- ABDUL KADHAR K. M. (1991) "Stop motions in Skeining machine", Indian Textile J. Sep., pp.78-80.
- HENRY E. GARRETT, R. S. WOODWORTH. (1965) "Statistics in Psychology and Education", pp212-231.
- KIM. (1964), 'Silk Textile engineering', pp 48-54.
- SOMASHEKAR. T. H. (2001) "CSTRI Norms for process parameters, performance and productivity in silk preparatory and weaving", pp. 1-3.

ETUDES DE L'INFLUENCE DES METHODES DE DEVIDAGE ADOPTEES SUR LA RESISTANCE ET L'ALLONGEMENT DE LA SOIE GREGE BIVOLTINE ET POLYBIVOLTINE

K. M. ABDUL KADHAR^{1*}, DR G. HARIRAJ¹, SUBRATA ROY² &
T. H. SOMASHEKAR

1. Silk Conditioning and Testing House, Central Silk Technological Research Institute, Kancheepuram, Inde.
2. Central Silk Technological Research Institute, Bangalore, Inde.

Le dévidage de la soie grège est le tout premier processus préparatoire important dans le tissage de la soie sur métier à tisser manuel. On a accordé beaucoup d'attention à ce processus préparatoire puisque la vitesse et la tension de dévidage jouent un rôle vital pour déterminer les propriétés de résistance et d'allongement de la soie grège. Dans cette étude, nous comparons la performance et la tension de dévidage, à une vitesse de dévidage constante, de la soie grège bivoltine importée et de la soie grège polybivoltine indienne sur trois différents types de systèmes de dévidage, qui sont adoptés sur le terrain, en termes de propriétés de résistance et d'allongement. On constate que la soie grège polybivoltine donne des résultats significativement meilleurs par comparaison à la soie grège bivoltine et on peut attribuer ce phénomène à la teneur plus élevée en sérécine de la soie polybivoltine, qui encaisse le stress important qui se produit avec l'un des systèmes de dévidage.

INTRODUCTION

Le dévidage de la soie grège est le processus préparatoire pour le moulinage. Ce n'est rien d'autre que le déroulement de la soie grège de la flotte et l'enroulement sur la bobine en utilisant une machine de dévidage, qui est capable de fonctionner à différentes vitesses de dévidage et qui est équipée d'un mouvement transversal, tout en entraînant la bobine à une vitesse angulaire uniforme. Le dévidoir utilisé se positionne automatiquement au centre avec des pivots pliants en fil de fer. La bobine est lisse et bien équilibrée de manière à fonctionner à une tension de dévidage uniforme.

La vitesse et la tension de dévidage jouent un rôle principal pour déterminer les qualités de résistance et d'allongement de la soie grège (Kim, 1964). La présence de points de gomme et l'absence de croisements en losange de la flotte entraînent une tension irrégulière pendant le dévidage. On ajuste la vitesse de dévidage en fonction du titre du fil. On s'assure de l'alourdissement correct du dévidoir / guindre (poids mort), pour avoir une tension uniforme pendant le dévidage. On équilibre correctement le dévidoir / le guindre pour éviter qu'il ne tire sur un côté et donne un mouvement sans friction pour dévider la soie avec une force moins importante.

L'un des principaux groupes de métiers à tisser manuels, qui utilise de la soie grège bivoltine importée, adopte rarement la méthode de dévidage normal, mais utilise à la place deux types de dévidage inversé. Ces trois systèmes de dévidage sont présentés dans la figure 1. Avec le système normal de dévidage, comme le montre la Fig. 1 (a), le fil de soie, sous forme d'écheveau, provenant du dévidoir / guindre (S) à rotation libre, est d'abord pris par le passe fil (G) fixé sur le mécanisme de mouvement transversal et puis vers la bobine actionnée négativement (B). On s'assure d'une tension uniforme de dévidage par l'alourdissement correct du dévidoir / guindre (S) avec un poids mort (D) et le dévidoir / le guindre tourne dans le sens des aiguilles d'une montre.

* Auteur à qui adresser la correspondance

Avec le dévidage inversé avec un fil de fer (diamètre : 1,1 mm), le fil de soie provenant du dévidoir en rotation libre (S) passe d'abord par dessus un fil de fer (W), monté juste en dessous du dévidoir, qui fait la largeur de la machine et puis par le passe fil (G) fixé sur le mécanisme de mouvement transversal et finalement sur la bobine (B) comme le montre la Fig. 1 (b). Avec le dévidage inversé, le fil de soie du dévidoir / guindre (S) en rotation libre, est d'abord pris par le passe fil (G) fixé sur le mécanisme de mouvement transversal, puis vers la bobine actionnée négativement (B), puis à nouveau par le passe fil (G) et puis par-dessus la bobine (B), comme le montre la Figure 1 (c). Il est évident d'après les Figures 1 (b) et (c), que la tension de dévidage uniforme est assurée non pas par l'alourdissement du dévidoir / guindre (S) avec un poids mort (D), mais par le type de passage du fil. Dans les deux cas, le dévidoir / guindre tourne dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.

Sur le terrain, la méthode normale de dévidage n'est adoptée que pour la soie grège multibivoltine indienne, qui est disponible dans la fourchette de poids 60g ~ 80g, parce que le moulinier de soie sait comment alourdir correctement le dévidoir / guindre (poids mort). La tension pendant le dévidage demeure donc presque constante et bien dans les limites, jusqu'à ce que la flotte de soie grège s'épuise. Cela permet d'obtenir des bobines compactes et bien faites, ce qui est essentiel pour le processus du post dévidage. Pour la soie grège bivoltine importée, disponible dans la fourchette de poids de 180 g~200 g, le moulinier de soie ne maîtrise pas correctement l'alourdissement du dévidoir / guindre. La tension pendant la période initiale du dévidage est donc plus importante, ce qui entraîne la rupture de la soie grège et au moment de l'épuisement de la flotte, la tension est moins importante, ce qui entraîne des bobines lâches et mal montées. Quand on utilise ces bobines montées lâchement pour la préparation de la chaîne, on utilise principalement la soie grège bivoltine importée comme fils individuels dans la chaîne destinée à la fabrication de la soie kora des saracs et il y aura plus de déchets à cause des rebuts. Compte tenu de son expérience, le terrain a eu recours à deux méthodes différentes de dévidage inversé, de manière à diminuer les ruptures de dévidage et les rebuts pour diminuer les déchets pendant le tissage.

Dans ce cadre, nous avons entrepris cette étude pour évaluer l'influence des trois différentes méthodes de dévidage, en l'occurrence les systèmes normal, inversé avec du fil de fer et inversé sur les caractéristiques de résistance de la soie grège bivoltine importée et polybivoltine indienne.

MATERIELS ET METHODES

Matériel :

Pour l'étude, on prend en compte des lots de soie grège bivoltine importée et de soie polybivoltine indienne de 18 / 20 deniers, disponibles commercialement (cinq lots de chaque type), comprenant 5 flottes par lot. On équipe la machine de dévidage comprenant 25 têtes par côté, fonctionnant à une vitesse de surface de 140 m / min, avec le fil de fer nécessaire pour répéter le système de dévidage inversé avec du fil de fer. Le dévidage inversé sans fil de fer peut facilement être reproduit, puisqu'il ne nécessite que le changement du passage du fil, comme le montre la figure 1 c.

Conception de l'expérience :

On procède au dévidage normal pendant les 20 premières minutes pour les cinq lots de 5 flottes chacun et on produit ainsi 25 bobines avec suffisamment de soie. Puis, on procède au système de dévidage inversé pendant 20 minutes et on produit 25 bobines. Finalement, on procède au système de dévidage inversé avec le fil de fer pendant 20 minutes. On obtient donc un ensemble de 75 bobines par type de soie, c'est-à-dire qu'on prépare la soie grège bivoltine importée et la soie grège polybivoltine indienne pour l'étude, en soumettant chaque flotte à une heure de dévidage. Pendant le dévidage de la soie grège, on enregistre la tension aux différents passages du fil en utilisant un tensiomètre portable. On enregistre aussi les variations de la tension de dévidage pour rationaliser l'impact du passage du fil sur la tension de dévidage, particulièrement dans le cas du système de dévidage inversé avec le fil de fer.

On prépare une petite flotte (kilcha) de 225 mètres de long à partir de chaque bobine en dévidant la soie grège en utilisant un guindre d'enroulement ou une machine de reflottage (Abdul Kadhar, 1991). On procède au dévidage de manière aléatoire à différents endroits, c'est-à-dire pour la couche interne, moyenne et externe de la bobine pour s'assurer d'un échantillonnage représentatif. On prépare donc 75 Kilchas à la fois pour la soie grège bivoltine importée et pour la soie polybivoltine indienne pour procéder au test de résistance et d'allongement après avoir stocké les échantillons tests dans les conditions atmosphériques standard.

On utilise le testeur sérigraphie Tokyo Sangyo : Modèle TSS-30-S pour mesurer la résistance et l'allongement. Cet instrument travaille à un taux constant de balayage et on procède au test d'après la procédure stipulée dans BIS / 15090 / 2002. On analyse statistiquement la signification des résultats du test de résistance et d'allongement (Henry Garrett et coll., 1965).

On prépare aussi cinq échantillons de flotte de 10 g chacun pour les trois systèmes de dévidage pour s'assurer du % de perte au décreusage, à la fois pour la soie bivoltine importée et pour la soie polybivoltine indienne. On procède au décreusage en utilisant du savon neutre standard et la méthode à la soude prescrite pour la soie mûrier. On analyse statistiquement la signification des résultats du test pour le % de décreusage (Henry Garrett et coll., 1965).

RESULTATS ET DISCUSSION

Fluctuations de la tension de dévidage :

Il est évident d'après le Tableau I qu'il n'y a pas de différence significative de la tension de dévidage entre les méthodes de dévidage adoptées, à la fois pour la soie grège polybivoltine indienne et bivoltine importée. Dans tous les cas, les valeurs pour la tension de dévidage, c'est-à-dire « T » (Tension pendant le dévidage normal), « Tw » (tension pendant le dévidage inversé avec du fil de fer) et « Tr » (tension pendant le dévidage inversé) sont bien dans les limites de 5 ~ 7 g, (Somashekar, 2001), mais on observe une fluctuation anormale dans le cas du système de dévidage inversé avec du fil de fer.

Résistance et allongement :

Il est évident d'après les Tableaux II et III que la résistance et l'allongement de la soie grège bivoltine se détériorent de manière significative avec le système de dévidage inversé avec le fil de fer, par comparaison à la méthode normale de dévidage. Tandis que la soie polybivoltine indienne ne présente pas de détérioration significative des propriétés de résistance et d'allongement et elle s'avère supporter un stress important provoqué par la fluctuation anormale de la tension de dévidage, à l'inverse de la soie grège bivoltine importée avec le système de dévidage inversé avec le fil de fer.

La littérature (Kim, 1964) montre que la résistance et l'allongement de la soie grège sont fortement influencés respectivement par la tension et la vitesse de dévidage. Dans cette étude, le passage du fil, avec le système de dévidage inversé avec le fil de fer, qui entraîne une fluctuation instantanée de la tension de dévidage, semble influencer les propriétés de résistance et d'allongement de la soie grège dans le cas de la soie grège bivoltine importée.

Perte au décreusage :

Cette étude complète les observations antérieures selon lesquelles la soie grège polybivoltine indienne contient plus de sérécine, en termes de constituant en pourcentage, par comparaison à la soie grège bivoltine importée (Tableau IV). Ce phénomène donne un léger avantage à la soie grège polybivoltine pour supporter un stress important provoqué par la fluctuation de la tension de dévidage. A l'inverse de la sérécine, qui n'est rien d'autre qu'une gaine de revêtement, la fibroïne illustre les propriétés de résistance de la soie grège.

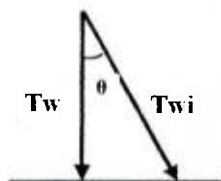
DISCUSSION

La tension de dévidage (T_w), dans le cas du dévidage inversé avec le fil de fer, est un facteur de quatre variables, c'est-à-dire la vitesse angulaire de la bobine, la friction entre le fil de fer et la soie grège, l'alourdissement de la flotte (poids mort) et la friction du dévidoir à l'emplacement du collet (friction de métal à métal). On n'a pas examiné ces variables plus en détail puisque la tension qui en résulte pendant le dévidage (méthode de dévidage inversé avec le fil de fer) est bien dans les limites (5 ~ 7 g). Pendant le dévidage, si le fil de soie au point « f », comme le montre la figure 1 (ii) passe par le guide transversal (G) de « fi » à « fii », la tension de dévidage (T_w) semble être uniforme et il n'y a pas de fluctuation pendant le dévidage. Si le fil de soie est le point d'appui au point « f » et que le passe fil (G) se déplace à n'importe quelle extrémité de la bobine en occasionnant la déviation du passage du fil, représenté par le vecteur T_{wi} , avec un angle de déviation θ proportionnel au passage normal du fil, représenté par le vecteur T_w , comme cela apparaît ci-dessous, cela entraîne une augmentation soudaine de la tension de dévidage. L'angle de déviation (θ) dans ce type de situation est compris entre 0° et 30° . Nous pouvons donc déduire la formule :

$$T_w = T_{wi} \times \cos \theta$$

$$T_{wi} = \frac{T_w}{\cos \theta}$$

où $\theta = 0^\circ$ à 30°



Il est évident d'après la formule ci-dessus que quand la soie n'est pas pivot ($\theta = 0$), T_{wi} est donc égal à T_w , ($\cos 0^\circ = 1$). Il est aussi évident que la fluctuation maximum représente 15,5 % de la tension normale de dévidage ($\cos 30^\circ = 0,866$) et les fluctuations en question semblent affecter la fibroïne dans le cas de la soie bivoltine importée. Avec les deux autres systèmes de dévidage, comme le montrent les Figures 1 (i) et (iii), la tension de dévidage semble être uniforme.

CONCLUSION

C'est le passage du fil par le fil de fer qui affecte les propriétés de résistance et d'allongement de la soie grège bivoltine importée. La pratique du système de dévidage inversé avec du fil de fer adoptée sur le terrain, détériore significativement la résistance et l'allongement de la soie grège, et devrait être arrêtée.

Cette étude ouvre des perspectives pour débiter des recherches ultérieures approfondies sur la soie grège importée et bivoltine indienne pour montrer l'influence de la fluctuation de la tension sur les propriétés de résistance et d'allongement.

AN IMPROVED METHOD OF ANDROGENETIC DEVELOPMENT IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

RAVINDRA SINGH*, R. NIRUPAMA, D. GANGOPADHYAY** & C. K. KAMBLE

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

Androgenesis provides an opportunity in silkworm breeding for the development of homozygous bisexual silkworm breeds. In the present study, an attempt was made to modify the method of Astaurov (1957) in order to improve the induction of androgenetic development in the oviposited eggs of the mulberry silkworm, Bombyx mori L. A higher trend towards androgenetic development and hatching were observed in the improved method.

Keywords: Androgenesis, *Bombyx mori* L., improved method, polyvoltine.

INTRODUCTION

Androgenesis, the development of an organism at the expense of cytoplasm of mother egg cell and male nuclear material (Astaurov, 1957), provides an opportunity in silkworm breeding for the development of homozygous silkworm breeds (Nacheva *et al.*, 1999). Attempts have been made to induce androgenetic development in silkworm by means of various agents like CO₂ and dry ice (Tazima and Onuma, 1967), low and high temperature (Sugai *et al.*, 1987) and gamma rays (Xu *et al.*, 1997). In the present study, an attempt was made to modify the routine method of Astaurov (1957) for the induction of androgenetic development in the silkworm, *Bombyx mori* L.

MATERIALS AND METHODS

In the present study, 'Nistari', an indigenous polyvoltine race of West Bengal which produces marked larvae and spins golden yellow spindle shaped cocoons and BL₆₈, an evolved polyvoltine breed which produces plain larvae and spins greenish yellow oval shaped cocoons, were utilized. Induction of androgenetic development was carried out as per Astaurov (1957). Males of BL₆₈ were allowed to mate with females of Nistari for 3 h at 25 °C and after depairing, females were kept at 5 °C for 48 h to synchronize the age of the eggs. Oviposition was carried out for 60 min in dark condition. Then the eggs were exposed to hot air at 40 °C for 135 min. Eggs were transferred to 15 °C for 3–5 days and incubated at 25 °C till hatching. There was no improvement in the rate of androgenetic development. Therefore, it was necessitated to improve the routine method in order to improve the induction of androgenetic development. A schematic representation of routine and improved method has been depicted in Fig. 1. Induction of androgenetic development was repeated thrice following routine and improved method simultaneously.

* Regional Sericultural Research Station, Jorhat - 785 005, Assam, India.

**National Institute of Science Technology & Development Studies, New Delhi - 110 012, India.

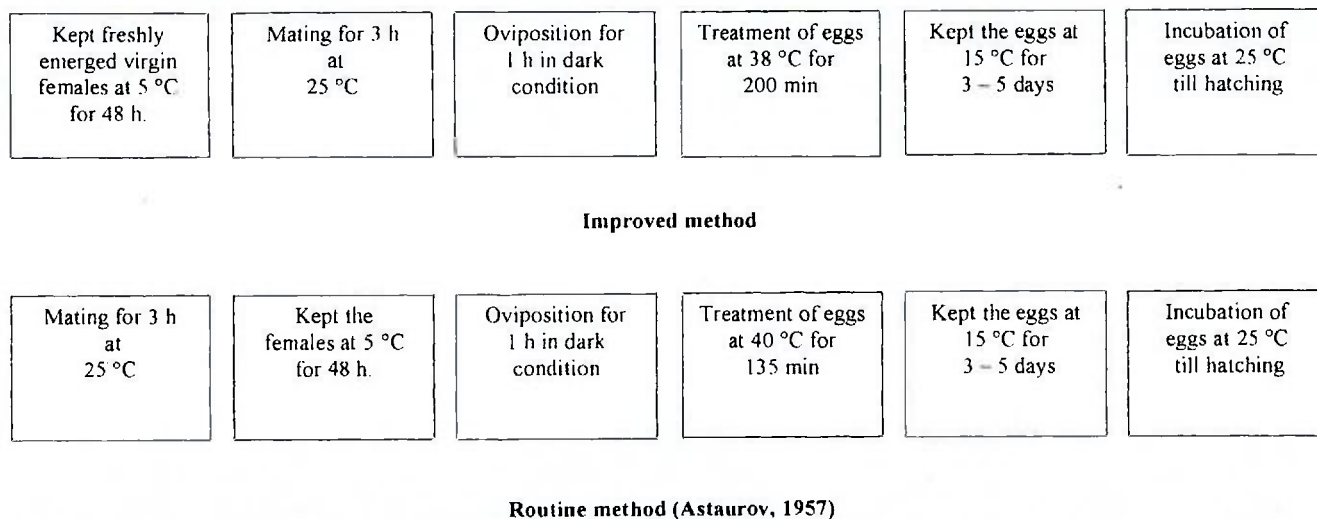


Fig. 1. Schematic representation of improved and routine method for androgenetic development in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Fig. 1. Représentation schématique du développement androgénétique chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. avec la méthode améliorée et habituelle.

RESULTS AND DISCUSSION

Induction of androgenetic development following routine and modified methods has been given in Table I.

When the eggs were activated following the improved method, higher average value of embryonic development (41.17 %) and hatching of androgenetic larvae (5.40 %) were observed.

Table I. Androgenetic development in routine and improved method.

Tableau I. Développement androgénétique avec la méthode habituelle et avec la méthode améliorée.

Trial	Total number of eggs treated	Number of eggs developed	% of egg development	Number of androgenetic larvae	% of androgenesis
<i>Essai</i>	<i>Nombre total d'oeufs traités</i>	<i>Nombre d'oeufs s'étant développés</i>	<i>% de développement des oeufs</i>	<i>Nbre de larves androgènes</i>	<i>% d'androgénese</i>
Routine Method / Méthode habituelle					
1.	2780	651	23.42	13	1.99
2.	4511	1404	31.12	17	1.21
3.	6249	1950	31.20	22	1.12
Total / Average					
<i>Total / Moyenne</i>	13,540	4,005	28.56	52	1.43
Improved Method / Méthode améliorée					
1.	3130	1008	32.20	69	6.84
2.	6837	3156	46.16	172	5.44
3.	6484	2929	45.17	115	3.93
Total / Average					
<i>Total / Moyenne</i>	16,451	7,093	41.17	356	5.40

In the routine method, the average embryonic development and androgenesis percentage were 28.58 and 1.43 % respectively. Androgenetic individuals were obtained in polyvoltine × bivoltine hybrids following treatment of eggs at 40 °C for 135 min (Ravindra Singh *et al.*, 1991). Androgenetic development in silkworm breeds and hybrids has been studied by several workers (Astaurov, 1957; Tazima and Onuma, 1967; Sugai *et al.*, 1987; Li *et al.*, 1988; Xu *et al.*, 1997; Nacheva *et al.*, 1999). Studies on androgenesis acquires a special significance in silkworm breeding for the development of homozygous breeds within a short period whereas longer duration and huge populations are required in conventional breeding (Strunnikov *et al.*, 1982; Ravindra Singh *et al.*, 2001).

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to the Department of Science and Technology, New Delhi for financial assistance.

REFERENCES

- ASTAUROV B. L. (1957) High temperature as a tool for controlling development and sex determination: A review of studies in artificial parthenogenesis, androgenesis and elimination of embryonic diapause in the silkworm, *Bombyx mori* L. Proc. Zool. Soc. Calcutta, Mookherjee memoir., 1, 29-56.
- LI W. Q., ABE S. & SAKAGUCHI B. (1988) Induction of androgenesis, gynogenesis and mosaic by treatment with CO₂ gas derived from dry ice. J. Seric. Sci. Japan, 57 (1), 43-48.
- NACHEVA Y., PETKOV N., TZENOV P., MALINOVA K. & GENSU C. (1999) Breeding of bisexual lines of the silkworm, *Bombyx mori* L. with androgenetic origin. Bull. Ind. Acad. Seric., 3 (1), 36-41.
- RAVINDRA SINGH, RAO D. R., KARIAPPA B. K. & JAYASWAL K. P. (2001) Androgenesis in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.: A review. Int. J. Indust. Entomol., 3 (2), 109-112.
- RAVINDRA SINGH, VIJAYARAGHAVAN K., RAOP. R. M., SENGUPTA K. & PREMALATHA V. (1991) Androgenic development in the eggs of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 30 (2), 93-96.
- STRUNNIKOV V. A., LEZHENKO S. S. & STEPANOVA N. L. (1982) Genetical identical copies of the mulberry silkworm. Theor. Appl. Genet., 63, 307-315.
- SUGAI E., YOKOYAMA T. & MINO T. (1987) Death of haploid androgenetic eggs in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Japan, 56 (5), 385-389.
- TAZIMA Y. & ONUMA A. (1967) Experimental induction of androgenesis, gynogenesis and polyploidy in *Bombyx mori* by treatment with CO₂ gas. J. Seric. Sci. Japan, 36 (4), 286-292.
- XU A., FANG A. & HUN J. T. (1988) Studies on chromosome engineering and its application in *Bombyx mori* III. Induction of androgenetic silkworm. Acta Sericologica Sinica, 14 (2), 93-96.

METHODE AMELIOREE DE DEVELOPPEMENT ANDROGENETIQUE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI L.*

RAVINDRA SINGH*, R. NIRUPAMA, D. GANGOPADHYRAY** & C. K KAMBLE

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore 570 008, Inde.

*L'androgénèse permet de mettre au point des lignées de ver à soie bisexuelles homozygotes dans le breeding du ver à soie. Dans cette étude, nous avons essayé de modifier la méthode d'Astaurov (1957) de manière à améliorer l'induction du développement androgénétique chez les œufs du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L. On observe une tendance plus importante au développement androgénétique et à l'éclosion avec la méthode améliorée.*

INTRODUCTION

L'androgénèse, le développement d'un organisme au détriment du cytoplasme de l'ovule de la mère et du matériel nucléaire mâle (Astaurov, 1957) permet de mettre au point des lignées de ver à soie homozygotes dans le lignage du ver à soie (Nacheva et coll., 1999). Des essais ont été faits pour induire le développement androgénétique chez le ver à soie au moyen d'agents divers comme le CO₂ et la carboglace (Tazima et Onuma, 1967), la température faible et élevée (Sugai et coll., 1987) et les rayons gamma (Xu et coll., 1997). Dans cette étude, nous avons essayé de modifier la méthode habituelle d'Astaurov (1957) pour l'induction du développement androgénétique chez le ver à soie, *Bombyx mori* L.

MATERIELS ET METHODES

Dans cette étude, on utilise Nistari, une race polyvoltine indigène du Bengale ouest qui produit des larves marquées et file des cocons jaune doré cintrés et BL68, une lignée polyvoltine mise au point qui produit des larves unies et file des cocons jaune-vert de forme ovale. On procède à l'induction du développement androgénétique d'après la méthode d'Astaurov (1957). On laisse les mâles de BL68 s'accoupler avec les femelles de Nistari pendant 3 h à 25° C et après les avoir désaccouplés, on conserve les femelles à 5° C pendant 48 h pour synchroniser l'âge des œufs. On procède à la ponte pendant 60 min dans l'obscurité. Puis, on expose les œufs à l'air chaud à 40° C pendant 135 min. On transfère les œufs à 15° C pendant 3 à 5 jours et on les incube à 25° C jusqu'à l'éclosion. On constate une amélioration du taux de développement androgénétique. La méthode habituelle a donc besoin d'être améliorée pour augmenter l'induction du développement androgénétique. La représentation schématique de la méthode habituelle et de la méthode améliorée apparaît dans la Fig. 1. On répète l'induction du développement androgénétique trois fois en adoptant simultanément la méthode habituelle et la méthode améliorée.

* Regional Sericultural Research Station, Jorhat -785 005, Assam, Inde.

**National Institute of Science Technology & Development Studies, New Delhi -110 012, Inde.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'induction du développement androgénétique en suivant les méthodes habituelle et modifiée est présentée dans le Tableau I. Quand on active les œufs en suivant la méthode améliorée, on observe une valeur moyenne plus élevée de développement embryonnaire (41,17 %) et d'éclosion de larves androgénétiques (5,40 %).

Avec la méthode habituelle, le développement embryonnaire et le pourcentage d'androgénèse moyens sont de respectivement 28,58 et 1,43 %. On obtient des individus androgénétiques à partir d'hybrides polyvoltin × bivoltin suite au traitement des œufs à 40° C pendant 135 min (Ravindra Singh et coll., 1991). Plusieurs chercheurs ont étudié le développement androgénétique chez les lignées et les hybrides du ver à soie (Astaurov, 1957 ; Tazima et Onuma, 1967 ; Sugai et coll., 1987 ; Li et coll., 1988 ; Xu et coll., 1997 ; Nacheva et coll., 1999). Les études sur l'androgénèse ont pris une dimension particulière dans le lignage du ver à soie pour la mise au point de lignées homozygotes en l'espace d'une courte période, tandis qu'avec le lignage conventionnel, une durée plus longue et d'énormes populations sont nécessaires (Strunnikov et coll., Ravindra Singh et coll., 2001).

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to: **Dr G. CHAVANCY** or to sericologia@inserco.org. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in SERICOLOGIA, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.

- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. J. Seric. Sci. Jpn. In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in Arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 × 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux, soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY** ou à sericologia@inserco.org. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.

- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 x 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés à part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés à part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés à part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

