

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*)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / *India*)
SONWALKAR T.N. (Inde / *India*)
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

Revue / Review

- Bacterial pathogens of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. and their management strategies** 401
 Pathogènes bactériens du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L et stratégies de lutte . . . 421
 S. MANIMEGALAI

Article scientifique / Scientific paper

- New appearance of melanization in the silkworm, *Bombyx mori*** 435
 Nouvel aspect de la mélanisation chez le papillon, *Bombyx mori* 443
 K. YAMAMOTO, Y. ASO & H. FUJII

Rapports techniques / Technical reports

- Resource productivity in large scale sericultural farming** 447
 Productivité des ressources dans la sériciculture à grande échelle 455
 P. KUMARESAN, R. G. GEETHA DEVI, S. RAJADURAI, N. G. SELVARAJU
 & C. K. KAMBLE

- Role of mulberry nutrition in the manifestation of economic traits of silkworm races under temperature stress conditions** 461
 Influence de la nutrition avec le mûrier sur la manifestation des caractères économiques chez les races de ver à soie dans des conditions de stress de température 473
 F. A. MALIK & Y. SRINIVASA REDDY

- Secondary plant nutrients uptake in mulberry under irrigated condition** 481
 Absorption des nutriments secondaires des plantes chez le mûrier dans des conditions d'irrigation 489
 R. M. SHIVAPRAKASH, U. D. BONGALE, S. N. NARAYANAGOWDA & N. SIDDALINGASWAMY

- Effect of integrated nutrient management on soil microflora of irrigated mulberry gardens** 495
 Effet de la gestion intégrée des nutriments sur la microflore du sol des mûraies irriguées . 505
 JAISHANKAR & S. B. DANDIN

- Performance of indoor rearing under different feeding frequency in tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury** 513
 Performance d'élevage du ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury à l'intérieur avec différentes fréquences d'alimentation 521
 G. S. SINGH, S. S. RATH, S. S. SINGH & M. K. SINGH

Integrated management to control uzi fly, <i>Blepharipa zebina</i> Walker, an endoparasitoid of tropical and temperate tasar silkworms	525
Gestion intégrée pour lutter contre la mouche uzi, <i>Blepharipa zebina</i> Walker, un endoparasitoïde des vers à soie tasar tropical et tempéré	531
RAM KISHORE, A. K. DEBNATH & N. SURYANARAYANA	

Effect of different combinations of micronutrients on the yield and nutritive value of <i>Terminalia arjuna</i>	535
Effet de différentes combinaisons de micronutriments sur le rendement et la valeur nutritive de <i>Terminalia arjuna</i>	543
U. S. P. SINHA, S. K. CHAUDHARY, A. K. SINHA, J. PRASAD, S. DAS & N. SURYANARAYANA	

Note brève / Brief note

Utility scope of hybridization in seed production of tropical tasar silkworm <i>Antheraea mylitta</i> D.	547
Utilité de l'hybridation dans la production de graines du ver à soie tasar tropical, <i>Antheraea mylitta</i> D.	553
R. MANOHAR REDDY, G. HANSDA, N. G. OJHA & N. SURYANARAYANA	

BACTERIAL PATHOGENS OF MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. AND THEIR MANAGEMENT STRATEGIES

S. MANIMEGALAI

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

Mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. is susceptible to various diseases such as bacterial, viral, fungal and protozoan. The occurrence of diseases causes 30 to 40 per cent loss in cocoon yield. Among the diseases, bacterial pathogens alone inflict loss to the tune of 70 per cent. They are known to take active participation in silkworm flacherie either independently or in combination with virus aiding in disease epizootics. Bacteria such as *Serratia marcescens* and *Pseudomonas* sp. cause septicaemia of prepupal or pupal stages leading to cocoon melting and reduction in grainage productivity. The endotoxin *Bacillus thuringiensis* Berliner is known to destroy the gut lining causing paralysis and death. Synergistic interference of different pathogens is also observed to influence the disease development in silkworm. Under stress conditions, non pathogenic forms may also become pathogenic. Various factors such as poor quality leaf, improper disinfection practices and selection of breeds, variation in environmental conditions predispose the larvae to bacterial disease. Though the role of bacteria in causing silkworm flacherie has been documented from early times, it is generally seen that there is not much information on the pathogens excepting *B. thuringiensis*. Hence, survey and yield loss, symptomatology, biodiversity of pathogens, susceptibility of breeds and disease management strategies are discussed.

Keywords: *Bombyx mori*, bacterial pathogens, survey and crop loss, symptomatology, biodiversity, pathogenicity, susceptibility of breeds, management strategies.

Indian Sericulture is emerging as an important agro-based industry in recent years because of its employment potential and entrepreneurship opportunities leading to stable and higher income. Intensive efforts are being made to develop high yielding mulberry varieties, newer silkworm breeds, scientific rearing technologies and eco-friendly disease management methods. Frequent outbreak of diseases leads to crop failure which is the major limitation to achieve higher cocoon productivity. Silkworm is affected by bacterial, viral, fungal and protozoan pathogens (Das Gupta, 1950). Among the diseases, bacterial pathogens independently cause cocoon loss to the tune of 70 per cent (Aruga and Tanada, 1971) and 75 per cent (Nanavathy, 1965, Sidhu and Singh, 1968). The disease causing bacteria are generally classified as bacteremia, septicaemia and toxemia and the disease caused by bacteria is generally called flacherie. Flacherie in silkworm is a syndrome characterized by flaccidity of larval body. Starting from Pasteur report in 1870 as coccus and bacillus bacteria causing flacherie, wide variety of bacteria causing flacherie in silkworm were reported by several authors from time to time. *B. thuringiensis* while harmless to human beings, livestock and plants has shown considerable promise in the control of several lepidopterous pests (Steinhaus, 1957). Majority of the *B. thuringiensis* varieties are harmful to silkworm. Sotto and aizawai varieties are highly toxic more than israelensis and dermastadiensis (Anonymous, 1989). They destroy gut lining causing paralysis and death (Aizawa and Fujiyoshi, 1968, Aizawa, 1971).

Following the identification of causative agents for flacherie, several preventive and curative measures were suggested from time to time to prevent the loss due to flacherie. Knowledge on predisposing factors is highly essential. Bacterial disease, being a serious concern by sericulturists, several published information on this disease have been gathered and presented. This review shall

provide good information on the loss due to bacterial pathogens, symptomatology of disease, pathogenicity, differential susceptibility of breeds and management strategies.

SURVEY AND CROP LOSS

Knowledge on bacteria causing diseases in insects began in the late nineteenth century with Pasteur's (1870) study on flacherie disease of silkworm. Pasteur isolated *B. thuringiensis* from dusts in silkworm rearing areas.

Varying degrees of crop losses due to the bacterial diseases were reported from time to time by several authors in India. Thirty to forty per cent cocoon loss due to flacherie has been reported (Janakiraman, 1961; Chitra *et al.*, 1975). Vasantharajan and Munirathnamma (1980) indicated the wide distribution of spore forming *Bacillus* strains in sericultural areas of Karnataka. According to Baig and Pradip Kumar (1987), though there is an increase in cocoon production due to the advent of improved silkworm rearing practices, still there is a crop loss of 15 to 20 per cent due to diseases. A survey report has shown a loss of 3.5 to 4.0 kg of cocoons due to diseases for every 100 disease free laying accounting to an annual loss of 200,000 US dollars in Tamil Nadu, considering a total production of 300,000 disease free laying (CSR & TI, 1989). Samson *et al.*, (1990) conducted a three year detailed survey on the incidence of diseases of silkworm by studying 3032 cocoon crops. The report of the survey indicated that the incidence of bacterial flacherie was the highest among the diseases (57.2%) followed by cytoplasmic polyhedrosis virus (27.88%), nuclear polyhedrosis (5.0%), pebrine (2.32%) and muscardine (0.48%).

Flacherie incidence in Jammu and Kashmir was studied by Chishti *et al.*, (1991) and the result of the study has shown that the intensity of infection was 3-8 per cent in worms reared scientifically as compared to 12-35 per cent in worms reared under unhygienic conditions. The disease infection was seen mostly in the fourth and fifth instars. In Sericultural areas of Karnataka, spore forming *Bacillus* were prevalent only in seven places out of 10 places tested, of which only two of them were found to be pathogenic to silkworm with a spore load of 2.00×10^5 and 1.26×10^5 per gram of dust in both the places (Nataraju *et al.*, 1991).

Savanurmath *et al.*, (1992) reported the flacherie as the most predominant (47.9%) among the diseases of *B. mori* followed by grasserie (42.6%) and kenchu (9.5%). They observed a significant correlation between the incidence of diseases and weather parameters such as temperature and humidity in the dry zone and transition zone of northern Karnataka. Prevalence of flacherie to the extent of 22.33 to 43.05 per cent throughout the year was reported by Sivaprasad *et al.*, (1995).

In a survey conducted by Subba Rao *et al.*, (1997) in Denkanikotai and Krishnagiri areas of Dharmapuri district, to study the adoption of packages by farmers on mulberry cultivation, chawki and late age worm rearing techniques and disease control, it was found that the farmers with land holding of 0.8 to 1.2 hectares and above obtained the highest average yield of 40 - 44 kgs/100 dfls in cross breed, PM $\times$ NB4D2 compared to farmers with land holding of 0.2 - 0.4 hectares who obtained 30 - 40 kg/100 dfls.

Flacherie, a disease in silkworm is caused by different species of bacteria and viruses, individually or in combination. Streptococcus and Staphylococcus are primarily responsible for flacherie in silkworm (Selvakumar *et al.*, 2001). Nataraju *et al.*, (2004) reported the silkworm crop loss of 22 to 43 per cent due to flacherie. Manimegalai and Chandramohan (2005a) conducted a survey in traditional districts of Tamil Nadu and reported the flacherie incidence of 5.56, 4.64, 7.12 and 11.08 per cent in Coimbatore, Erode, Salem and Dharmapuri districts respectively. Priyadharshini (2006) undertook a survey in traditional silkworm growing districts of Tamil Nadu and recorded the maximum flacherie incidence in Dharmapuri followed by Salem, Coimbatore, Erode and Vellore.

SYMPTOMATOLOGY

The bacterial diseases are classified based on the type of bacteria infecting the organism such as bacterial septicaemia, bacterial diseases of digestive organs and bacterial toxicosis. Septicaemia is characterized by sluggish movement, decreased appetite, straightened body, swollen thorax, shrinkage of abdominal segments, vomiting and extruding of soft or bead like faeces. The wall ruptures releasing a foul smelling liquid. The pathogen includes large bacilli, small bacilli, *Streptococci* and *Staphylococci*. The bacterial disease of digestive organs is generally due to *Streptococcus* and *Bacilli* and symptoms include shrinking of worms with transparent head. Diarrhoea occurs and corpse of infected worms becomes dark brown, rotten and exudes a foul smell. Bacterial toxicosis is caused by *B. thuringiensis*. The larvae lose appetite and become sluggish. The larvae lift its head up, develop spasm and tremors, vomits gut juice, paralyze, collapse and die. The head appears to bend giving a hook shaped appearance and the corpse is hard to touch. The term flacherie is used to describe the flaccid condition in *B. mori* ailing from all sorts of dysenteries (Krishnaswami *et al.*, 1973).

According to Heimpel and Angus (1959), the first external symptom of intoxication is the cessation of feeding and silkworm being a Type I insect suffers from fatal paralysis of whole body. When the gut of silkworm larva affected by *B. thuringiensis* is exposed by dissection, the fore and hindgut were found to move continuously, whereas midgut immediately stops contracting (Hukuhara *et al.*, 1981).

Lian and Liu Fuan (1991) were of the opinion that the bacterial diseases are called flacherie disease because of the fact that the corpses of silkworms that die of them soften and rot. Chitra *et al.*, (1975) reported that the flacherised worms do not shed their skin properly after moulting and the infection by the pathogen also causes diarrhoea.

Nishitsutsuji Uwo and Endo (1980) divided the succession of symptoms of intoxicated *B. mori* into four arbitrary stages viz., appearance and locomotion normal, no feeding, slightly sluggish, extremely sluggish and complete paralysis.

According to Lian and Liu Fuan (1991), the acute bacterial toxicosis results in death of worms within 10 min to few hours. Shortly after death, the corpse is extended and appears hard to touch with the head retracted so as to assume a hook shaped appearance.

Singh *et al.*, (1994) reported that worms infected with cocci exhibit symptoms of shrinkage of body, softness of skin, flaccidity and retarded growth. Sluggishness of worms is seen 10-12 hrs after bacterial infection followed by loss of clasping power of the legs, flaccidity and death are observed in larvae suffering from chronic bacterial toxicosis (Anitha *et al.*, 1994). Sukan *et al.*, (1995) reported highest pupal mortality due to melting during summer in Sirsi (30%), Hassan (18.80%), Anekal (24.50%) and K.R. Pet (37%) regions of Karnataka.

Flacherie affected larvae become semitransparent in the anterior part of the body in early stages and the digestive juice which is initially yellow in colour, turns blackish brown. Poor growth, higher percentage of adipohaemocytes in haemolymph with lower amount of protein, calcium, magnesium chloride and decreased acidity of haemolymph were reported by Aruga (1994). Red flacherie caused by *S. marcescens* affected the gut resulting in improper digestion, invasion of susceptible tissues and interference with the normal physiological activities of the silkworm (Samson, 1995).

Cells of the midgut of intoxicated larvae have enlarged nuclei, alteration of the endoplasmic reticula to vacuole like configurations, disintegrations of the microvilli and the deformation of the basal infolding of the epithelium are gross pathologies of silkworm infected by *B. thuringiensis* (www.bacterial diseases. htm, 2001). Flacherie affected worms showed unequalness with slightly smaller in size and the worms continue to feed (Prasad, 1999). Larva becomes soft and flaccid, its growth is retarded, it becomes dull, vomits gut juice and faeces becomes translucent and turns black and with foul smell (Dandin *et al.*, 2000). Larvae affected by *B. thuringiensis* exhibited blackening of the body first in middle region of body followed by the anterior and posterior regions (Manimegalai, 2003).

BIODIVERSITY OF BACTERIAL PATHOGENS

In 1901 and 1902, a spore forming bacterium was isolated by Ishiwata from diseased larvae of *B. mori*. Ishiwata (1905) described this bacterium as "Sotto disease *Bacillus*". In 1908, Iwabuchi and in 1915 and 1916, Aoki and Chigasaki reinvestigated this bacterium and designated as *Bacillus sotto*. The best known species of crystalliferous bacterium, *B. thuringiensis* was isolated in 1911 by Berliner from diseased larvae of the Mediterranean flour moth, *Anagasta kuhniella* (Zell.) obtained from Thuringia province of Germany. Paillot (1942) isolated a spore forming bacterium from pupae of silkworms. Pathogenic spore forming *Bacillus cereus* var. *alesti* was isolated from a flacherie disease infected larvae by Toumanoff and Vago (1951). Hannay (1953) reported that the pathogenicity of the organism, *Bacillus* might be associated with diamond shaped parasporal bodies or crystals formed in the sporangium at the time of spore formation.

Anitha *et al.*, (1994) isolated *Bacillus*, *Staphylococcus* and *Serratia* from diseased silkworms collected from Madurai, Periyakulam, Dindigul and Virudhunagar districts of Tamil Nadu. Among the infected worms collected, 34 per cent showed *Serratia* infection, 38 per cent cases showed *Staphylococcus* and 28 per cent cases showed the infection by *Bacillus*.

Chitra *et al.*, (1973) from Karnataka have isolated *Aerobacter cloacae*, *Achromobacter delmarvae* and *Achromobacter superficialis* from haemolymph and *A. cloacae*, *A. superficialis*, *A. delmarvae*, *Pseudomonas boreopolis*, *Pseudomonas ovalis*, *Escherichia freundii* and *Staphylococcus albus* from midgut of silkworm larvae suffering from flacherie. The bacterial pathogens were isolated from cadavers of *B. mori* and broadly divided into two classes, viz., those that are restricted to intestine and those which enter the haemolymph (Chitra *et al.*, 1975). Pigmented and nonpigmented strains of *Serratia marcescens* were isolated from kenchu diseased silkworms which caused a lethal infection when associated with *Staphylococcus* sp. (Vasantharajan and Munirathnamma, 1978). Pathogenic spore forming *Bacillus* was also isolated from silkworm litters (Ohba *et al.*, 1979).

Enomoto *et al.*, (1987) reported several septic bacteria causing septicaemia in silkworms from cocoons of *B. mori*. Of the septic bacteria isolated, *Serratia* was the most abundant and was more in summer and autumn rearing seasons in Ibaraki Prefecture in Japan. Spore forming *Bacillus* were isolated by Nataraju *et al.*, (1991) in litter samples of Chamarajanagar, Attibele, Dharmapura, Bidar, Sisri and Chitradurga areas of Karnataka. Though many *B. thuringiensis* strains have been isolated from soils, most strains used in the commercial production of microbial insecticides have been isolated from diseased insects (Reardon *et al.*, 1994).

Sengupta *et al.*, (1990) reported various bacteria viz., *B. thuringiensis*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus* sp, and *Serratia marcescens* from silkworm and they were found singly or in combination. Patil (1994) observed *Streptococcus faecalis* in diseased silkworms in India. Bacteria such as *S. faecalis* var. *liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and Infectious flacherie virus were isolated from the flacherised cadavers of silkworm and found to be involved in synergistic association in causing the disease (Nataraju *et al.*, 1999).

Studies on the bacterial spp. associated with flacherie disease of silkworm, *B. mori* in Tamil Nadu resulted in isolation of 43 strains from various districts. It indicated rich diversity of bacterial species with 34.88 per cent of them being *Staphylococcus* sp., 4.65 per cent *B. thuringiensis* and 58.14 per cent *Bacillus* sp. (Manimegalai, 2003). Priyadharshini (2006) isolated *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella cloacae* and *Staphylococcus aureus* from diseased cadavers.

PATHOGENICITY

Mere presence of microorganism in haemocoel or infected tissue of diseased insect does not prove it as a pathogen. It should be virulent and should confirm the Koch postulate theory.

Certain strains of *B. cereus* are among the more virulent known bacterial pathogens of silkworm, *B. mori* (Steinhaus, 1949). The spore forming bacteria are the well known bacterial pathogens of insects and several strains are found to be highly toxic to *B. mori* (Angus, 1956; Aizawa *et al.*, 1961). Angus (1967) reported that when crystals of *B. thuringiensis* var *sotto* and *B. thuringiensis* var *entomocidus* are fed to silkworms, paralysis occurs within 6 h with 0.02 and 0.03 µg/g of larvae. The heart beat could be detected upto 36 h in some paralyzed larvae.

According to Chitra *et al.*, (1973), the rate of mortality varies in silkworm infected by different bacterial species. Infection by different species of bacteria causes severe mortality and majority of deaths occur during moult and when worms are about to spin. Hukuhara *et al.*, (1981) observed that the time interval intervening between the administration of the toxin and midgut paralysis become shorter as the dose increased. *Serratia marcescens* is not pathogenic to insects when present in the digestive tract in small numbers (Sikorowski, 1985), but once it enters the haemocoel, it multiplies rapidly and causes death in one to three days (Tanada and Kaya, 1993). Enomoto *et al.*, (1987) reported that injection of $6.0 - 8.0 \times 10^2$ bacterial cells caused death of larvae within 18 hrs and the pathogenicity of *Streptococcus* and *Bacillus* were lower than other bacteria.

Asano and Lizuka (1990) tested the insecticidal activity of 20 strains of *B. thuringiensis* against fifth instar larvae and found that activity was seen only in strains having 130-140 KDa peptides. Among the eight spore forming *Bacillus* isolated from sericultural areas of Karnataka, only two were toxic and the symptoms exhibited by these two *Bacillus* sp. were typical of *B. thuringiensis* (Nataraju *et al.*, 1991). Nataraju *et al.* (1993) reported that out of twenty three *B. thuringiensis* varieties evaluated for pathogenicity, only eight were found to be pathogenic. In *B. thuringiensis* var. *sotto*, the stock suspension (1.50×10^7 spores/ml) and its dilutions (3.00×10^6 , 1.50×10^6 , 7.50×10^5 , 5×10^5 , 3.75×10^5 and 3×10^5 / ml) induced 100, 100, 74, 77, 72, 45 and 0.00 per cent mortality, respectively in second instar. Anitha *et al.*, (1994) reported that the var *sotto* and *aizawai* were more toxic than others. The LD₅₀ values were 5.9×10^7 for *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. and 2.4×10^7 for *Serratia* sp.

According to Selvakumar *et al.*, (1999), eight varieties of *B. thuringiensis* viz., *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, *alesti*, *kurstaki*, *galleriae*, *morrisoni*, *taumanoffi* and *wuhanensis* were toxic to *B. mori*. *B. thuringiensis* *kurstaki* was highly toxic to *B. mori* and 0.1 per cent concentration of *B. thuringiensis* *kurstaki* provided 90.0 and 96.67 per cent mortality in third and fourth instar larvae of *B. mori*. Even a low concentration of 0.01 per cent inflicted 56.67 per cent mortality of fourth instar larvae. The LC₅₀ values for third, fourth and fifth instars were 0.02, 0.013 and 0.089 per cent, respectively (Pramanik and Somchoudhury, 2001).

Feeding silkworm larvae with 10^6 cells of *Bacillus*, *Staphylococcus* and *Serratia* did not cause mortality upto 48 hrs. However, when fed with 10^7 cells, mortality was observed within 48 hrs. LD₅₀ was 5.90×10^7 cells for *Bacillus* and *Staphylococcus* infections and 2.49×10^7 for *Serratia* infection (Anita *et al.*, 1994). Selvakumar *et al.*, (2001) reported that 1×10^7 cells / ml of *Streptococcus* caused mortality of 30 per cent.

The studies on pathogenicity of *Bacillus* isolates against popular multivoltine × bivoltine breeds, viz., PM × NB4D₂, PM × CSR₂ and BL₂₃ × NB4D₂ and bivoltine breeds viz., CSR₄ × CSR₂, CSR₂ × CSR₄ and CSR₁₈ × CSR₁₉ revealed that all the breeds were susceptible to both the isolates with the mortality ranging from 69.23 to 99.20 per cent (Manimegalai, 2003).

Spores and associated proteins of strains of *B. thuringiensis* caused lethal intoxications and infections on a variety of insect larvae (Peter Setlow, 2005). Variations in pathogenicity between breeds against *B. thuringiensis* were reported by Manimegalai and Chandramohan (2005b). *B. thuringiensis* caused 69.23 per cent, 96.0 per cent and 96.72 per cent mortality in PM × CSR₂, PM × NB4D₂ and BL₂₃ × NB4D₂ respectively.

Pathogenicity studies conducted with the bacterial strains against third instar larvae of silkworm cross breed, PM × CSR₂ showed that the strains viz., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. and *Klebsiella cloacae* produced mortality upto 73.70, 72.00 and 73.00 per cent respectively (Priyadharshini, 2006).

Susceptibility of breeds to bacterial pathogens:

Each group of insects has their own inbuilt defensive mechanism against disease epidemics. This immune response vary from one race to another and may be classified as high, medium and low depending upon the magnitude of response. Therefore, screening of different races based on the magnitude of such responses exhibited by them could help to evolve disease resistant races which grow healthily even under contaminated conditions (Samson and Chandrashekaraiiah, 1998).

Considering the importance of *B. thuringiensis* as biological control agent, attempts had been made to develop silkworm races resistant to *B. thuringiensis* (Aizawa *et al.*, 1962). Fast and Angus (1965) were of the opinion that gut permeability in silkworm due to the administration of endotoxin is higher in German white breed of silkworm compared to that of British Zebra breed. Sublethal doses of vaccines of pathogenic bacteria into individuals of several insect species elicit acquired response to subsequent bacterial infection that may persist for several days (Stevens, 1963). The acquired protected state corresponds temporarily with synthesis of several proteins in haemolymph (Boman *et al.*, 1974; Faye and Wyatt, 1980).

Liu Shi Xian (1984) reported that different races of silkworm showed variation in their susceptibility to different diseases. According to Krishnaswami *et al.*, (1973), the resistance to disease is only comparative and there is no silkworm race that is totally resistant to diseases. Jayaramaiah and Kuberappa (1978) reported that no race of silkworm is immune or completely resistant to diseases.

It has been reported that Pure Mysore acquire 12 per cent more resistance to *B. thuringiensis* after seven generations of continuous rearing with sublethal dose of pathogen (Samson, 1987). Singh *et al.*, (1990) studied the susceptibility of different races to diseases. It was observed that the highest incidence of flacherie was recorded in NB₇ (10.44%) followed by NB₁₈ (10.17%), NB_{4D2} (9.95%) and PCN (9.60%). Minimum occurrence of flacherie was recorded in PM (4.33%) followed by *C. Nichi* (5.89%) and MY₁ (7.83%). The bivoltine races exhibited the highest disease occurrences and multivoltines recorded minimum incidence of diseases in different seasons. According to Sree Rama Reddy (1998), resistance mechanisms in insects are poorly developed and the immunity acquired is transitory and hence a major hurdle exists in exploiting these mechanisms for the purpose of disease control.

Management of bacterial flacherie:

Management of silkworm disease is one of the vital components of successful silkworm rearing for higher yield and quality of cocoons. Proper disinfection of the rearing room, rearing appliances and rearing bed prevent and control the silkworm diseases and maintains hygiene by creating pathogen free environment for cocoon production (Liu and Zhong, 1988). Thus, it is the one among the key factors in determining the success of sericulture (ESCAP UN, 1990).

PRECAUTIONARY MEASURES**Provision of good quality leaves:**

Soiled mulberry leaves, leaves deficient in chlorophyll, contaminated leaves, mulberry grown under shade or with excess nitrogen fertilizer, hot and humid seasons, fluctuations in temperature and humidity, poor disinfection practices, accumulation of faeces in rearing trays and drift effect of bacterial pesticides used on other crops for pest management are some of the predisposing factors for the outbreak of flacherie.

Matsumura (1930) reported that the worms fed on leaves containing little of chlorophyll suffer from flacherie. The importance of several biomolecules such as proteins, sugars, amino acids and others in silkworm feed has been stressed even in earlier days (Ito, 1960; Ito and Arai, 1965; Li and Sano, 1984). Role of nutrition on growth, development and overall performance of cocoon were reported by many authors (Yokoyama, 1962; Horie and Watanabe, 1980; Benchamin and Jolly, 1986). Micronutrients have now become important not only for the mulberry productivity, but also for the health of silkworm. It was observed that improvement of mulberry leaves could be made by

micronutrients such as magnesium, iron, manganese and cobalt (Ito and Niminura, 1966; Horie *et al.*, 1967), manganese (Viswanath, 1979) and zinc, iron, magnesium and boron (Lokanath and Shivashanker, 1986; Lokanath *et al.*, 1986). Krishnaswami *et al.*, (1973) observed that the growth and development of silkworm larvae and economic characters of cocoon got affected by feeding leaves with low quality level. They also suggested that the health and development of silkworm is closely related to quality and also quantity of leaf fed. It is essential to feed plenty of high quality mulberry leaves to avoid flacherie. Leaves grown in too little sunshine, dry weather, shade, lack of fertilizer applied field, muddy or dusty, withered leaf, etc. are poor in food value and detrimental to the health of larvae particularly in early larval stages.

Even when the healthy silkworm larvae are not inoculated with pathogen, the disease often breaks out and this type of infection is called induction. The induction phenomenon occurs for some reason or the other (Aruga, 1994). According to him, the production of cocoons is highly influenced by the quality mulberry leaf and one of the major reasons for the outbreak of flacherie disease is the poor quality mulberry leaf.

Leaf quality refers to the quality of mulberry leaf, the sole feed for the silkworm larvae. Quality leaf is responsible for nutrition of silkworm larvae. The method for assessing the mulberry leaf quality can be broadly divided into three categories viz., assessing the chemical characters of mulberry leaves and determining the physical and biological characters of leaves (Minamizawa, 1997).

According to Lian and Liu Fuan (1991), the quality of feed and level of ambient temperature and ventilation are directly related to level of resistance shown by worms to diseases and adverse condition. Feeding with over matured leaf also lead to flacherie incidence (Krishnaswami, 1990; Sarkar *et al.*, 1992). Tomy Philip and Govindaiah (1993) reported that leaf quality contributes to about 38.1 per cent for obtaining successful cocoon crop. Performance of silkworm race was influenced by nutrient content of leaf (Periyasamy, 1994), hygiene, rearing method, leaf quality and environmental factors (Krishnaswami, 1994) and leaf quality in terms of texture, protein content, water holding capacity and level of nutrients (Krishnaswamy, 1994). He also highlighted the need for secondary nutrients such as calcium, magnesium and sulphur which are needed for withstanding moisture stress, prevention of leaf chlorosis and activation of enzymes respectively.

The success of silkworm crop is decided by quality of mulberry leaf (Datta *et al.*, 1996) leaf quality coupled with disinfection and hygiene (Venkatesh and Patil, 2001). According to Sujan (2000), the major factor leading to melting in NP₂, KSO₁ and NB₂D₂ breeds of silkworm is the leaf quality. Manimegalai *et al.*, (2000) reported that feeding of chlorotic leaves induced the incidence of flacherie in cross breed, PM × NB₂D₂ in addition to reducing the economic characters such as larval weight, cocoon weight, shell ratio and silk filament length. The corrected mortality recorded due to feeding of these chlorotic leaves was found to be 41.50 and 59.26 per cent in shoot and leaf rearing method, respectively. Venkatesh and Patil (2001) observed a significant correlation between leaf biochemical parameters and incidence of bacterial and viral diseases in silkworm. Silkworms fed with phosphorus deficient leaves grew slowly and do not form cocoon showing symptoms of flacherie (Subbaswamy *et al.*, 2001).

Manimegalai and Chandramohan (2005b) reported that iron deficient leaves combined with the virulent strain of *B. thuringiensis* at a dose of 10^7 spores / ml and 2.5×10^9 spores / ml produced the highest mortality of 81.83 and 99.14 per cent respectively followed by virulent strain combined with normal leaf (64.58 and 95.63%).

Avoiding drift of *B. thuringiensis*:

With the onset of problems due to continued insecticide usage such as resistance, resurgence and residue, the interest in the use of *B. thuringiensis* was developed as it proved to be effective against a wide range of insect pests.

The fear of the use of these agents towards *B. mori* have been felt early as 1960s in Japan and it was suggested to use *B. thuringiensis* strains having low toxicity to the silkworm, but high toxicity to injurious insects (Aizawa and Fujiyoshi, 1968; Aizawa *et al.*, 1975; Aizawa 1976 and 1982). The

authors reported that *B. thuringiensis* preparations are known to be practically harmless to human, domestic animals, wild life, plants, honey bee and beneficial insects except silkworms. The toxicity of *B. thuringiensis* to silkworm has been demonstrated by several workers over the years (Ishiguru and Miyasono, 1979, Ohba *et al.*, 1984; Deshmukh and Deshpande, 1989; Pramanik and Somchoudhury, 2001).

Nishitsutsuji – Uwo and Wakisaka (1975) felt that there is a danger of *B. thuringiensis* being scattered by wind resulting in great damage in sericultural areas. Paddidam (1991) reported that majority of commercial *B. thuringiensis* formulations are based on subspecies *kurstaki* strain, HD-1 and are highly toxic to silkworm. He stressed the need to assess the safety of strains and pointed to a research finding on drift experiment conducted in Japan. The results indicated that silkworms reared on mulberry leaves collected 70 m away from *B. thuringiensis* sprayed plots developed normally.

Jyothi and Patil (1997) highlighted the need for detailed and comprehensive studies on the use of *B. thuringiensis* in the vicinity of mulberry crops especially in Kolar and other areas of Karnataka, where both sericulture and vegetable cultivation are practiced intensively. The author attributed that most of the *B. thuringiensis* strains are infective to *B. mori* and when the spores are dislodged into the rearing house, they infect the silkworms leading to further spread of disease. If the spores get transferred to mulberry garden, they remain viable in the soil for more than a year as they are resistant to adverse conditions.

Govindan *et al.*, (1998) suggested that *B. thuringiensis* preparations should not be used anywhere close to the rearing environment and if need be, a strain not pathogenic to silkworm should be employed and the minimum distance for safe use will have to be worked out. The result of the study on the waiting period of different commercially available *B. thuringiensis* products such as BTK-1, BTK-II, Dipel 81, Delfin and BARC revealed that, all the *B. thuringiensis* products were toxic to silkworm of different age in different methods of feeding. The products were safer when fed with 45th day old treated leaves (Sreenivasa and Patil, 1998). From the drift studies conducted by Sreenivasa *et al.*, (2002), it was clear that Dipel 81 drift was carried to a distance of 5 and 20 m, respectively with knapsack and power sprayer.

Spraying of *B. thuringiensis* formulation at a distance of 50 and 75 m were found to be safe with hand operated sprayer in presence and absence of barrier crop respectively. A distance of 70 and 90 m were safe for spraying with power sprayer in presence and absence of barrier crop (Manimegalai and Chandramohan, 2004a).

Chemical disinfectants:

The term disinfectant and antiseptic are used to describe chemicals that kill or prevent the growth and multiplication of microorganisms by operating in one or more ways. The disinfectant may coagulate proteins, inactivate enzymes and cause oxidation by breaking down enzymes on surface of microorganism, hydrolysis and disruption of cell membrane and modification of permeability of cell membrane (Thomas, 1974).

Reduction in viability and infectivity of *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* was observed due to the treatment with 0.05 and 0.5 per cent of sodium hypochlorite for one to 30 min. The reduction was seen to correlate with time of exposure and concentration of hypochlorite (Ignoffo and Dutky, 1963). The importance of commercial formalin with 35-38 per cent formaldehyde for disinfection of rearing room prior to brushing because of bactericidal and sporicidal effect was felt (Hoffman, 1971). It can be used as a disinfecting agent as it acts by depriving oxygen of pathogens and its efficiency increased with rise in temperature above 24°C (Jolly, 1986; Chuan and Chang, 1988).

Krishnaswami *et al.*, (1973) reported the use of formalin 2 per cent for sterilizing the egg surface of *B. mori* and rearing room. It can be used not only to get rid of any infection, but as a prophylactic measure also. Bleaching powder solution is widely used as disinfectant to kill pathogen like bacteria, protozoa and fungus. Commercial bleaching powder contains 30-34 per cent active chlorine which is also not stable. However, it is used as a germicide in different proportions pertaining to the

concentration of active chlorine and 0.5-5 per cent aqueous solution of chloride of lime is excellent for similar purpose (Frobisher *et al.*, 1974).

Jolly (1986) reported that bleaching powder referred as chlorinated lime powder is more useful in rearing cum dwelling houses which cannot be made air tight. It is the most suitable disinfectant used for open type of rearing house (Baig and Pradip Kumar, 1987). Sainson (1987) obtained 50-60 per cent reduction in flacherie incidence on treating mulberry leaves with 0.1 per cent formalin, 0.1 per cent sodium hypochlorite and 0.1 per cent bleaching powder. It is reported that the effectiveness of chemical disinfection depends on three factors, viz., concentration, the duration of treatment and ambient temperature (Benchamin, 1987; Fujiwara *et al.*, 1992).

High power bleaching powder with 1 per cent (w/v) of available chlorine (component with 80 per cent chlorine) exerts action against flacherie virus, bacteria, polyhedrosis virus, fungi and pebrine (Chuan and Chang, 1988; Fujiwara *et al.*, 1992). Balavenkatasubbaiah *et al.*, (1994) reported that bleaching powder 4 and 5 per cent was found to be more effective than 2 per cent formalin against *B. thuringiensis* spores as formalin is not suited for rearing houses which do not have air tight facilities. The disinfectant chlorine dioxide was reported to be a strong oxidizing agent, twice stronger than sodium hypochlorite and 2.5 times than chlorine (Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1996). It was proved as an effective disinfectant in laboratory and field and recommended for use in the rearing cum dwelling house. *In vivo* efficacy of Disfect at 1000 ppm against *B. thuringiensis* producing an inhibition zone of 14mm was reported by Manimegalai and Chandramohan (2004b).

Bed disinfectants:

Disinfection forms an integral part of healthy and successful silkworm rearing as it aims at the total destruction of disease causing pathogens. It is more important to disinfect the silkworm body and rearing seat with bed disinfectants for containing secondary contamination and to improve the hygiene during rearing (Dandin *et al.*, 2000).

Chinnaswamy *et al.*, (1988) observed that dusting of paraformaldehyde 2 per cent + benzoic acid 2 per cent + lime from third instar stage to cocoon formation was effective in controlling the diseases and also improving the economic characters. The beneficial effect of bed disinfectants, viz., benzoic acid, kaolin, paraformaldehyde, turmeric powder and lime on the growth and disease control of silkworm was observed by Jawale and Tayade (1987).

According to Baig and Pradip Kumar (1987), the diseases could be prevented through proper disinfection of rearing houses and appliances, sterilization of larval surface and rearing bed by application of bed disinfectants as there are no curative measures to control them. Paraformaldehyde is used as a bed disinfectant in powder form as a component of Resham Keet Oushadh or other disinfecting chemicals (Benchamin and Nagaraj, 1987). The effectiveness of formalin (1.0 and 2.0%) and bleaching powder (5.0%) as bed disinfectants were also reported (CSR & TI, 1989). Venkata Reddy *et al.*, (1990) suggested to use asiphor 2.0 per cent.

In vivo effect of disinfectants viz., paraformaldehyde and benzoic acid each 2 per cent in lime and their combination on silkworms was studied by Samson (1987). These treatments reduced the incidence of flacherie by 52 to 63 per cent over control. Datta *et al.*, (1998) reported that Vijetha is a silkworm body and rearing bed disinfectant of unique formulation effective against all silkworm diseases viz., pebrine, grasserie, flacherie and muscardine under varied conditions. Season had no effect on the efficacy of Vijetha, the use of which resulted in an improvement in cocoon yield by 10 kg per 100 dfls or additional gain of 30 per cent in production. The effective bed disinfectant property of lime was demonstrated by Prasad (1999).

In vivo evaluation of nine individual chemicals and three chemical combinations as bed disinfectants revealed that combination of Paraformaldehyde (2%) + Salicylic acid (2%) + M-PABA (0.5%) + Lime (94%) performed better for survival rate, single cocoon weight, shell weight and shell ratio (Banuprakash *et al.*, 2001). Shantha Kumar *et al.*, (2001) reported that the bed disinfectants, Resham Jyothi, Latex and Sanjeevini recorded significantly higher cocoon weight, shell weight, shell percentage, cocoon filament length and lower number of cocoon per kg, defective cocoons and

renditta. Sakthi Seri Dust, a broad spectrum and cost effective bed disinfectant was demonstrated by Manimegalai and Chandramohan (2006).

Antibiotics:

The beneficial action of the antibiotics has been attributed to their activity in conditioning the composition of intestinal flora, to their potential role as possible growth factors, to their biological efficiency in increased turning over of feed into body weight and to their potential disease control activity (Goldberg, 1959; Walton, 1977). Afrikan (1960) reported that feeding silkworm larvae once a day with leaves soaked in 500 units/ml of antibiotics, viz., streptomycin, aureomycin and tetracycline maintained the bacteriostatic conditions in the intestine of larvae for 16-24 h. The silk obtained from larvae fed on streptomycin and tetracycline was superior to that of control. Narayanan *et al.*, (1973) reported the growth inhibitory effect of *B. thuringiensis* by chloramphenicol and tetracycline. The efficacy of 0.05 and 0.1 per cent streptomycin, cloxacillin, kanamycin and gentamycin in reducing the mortality due to flacherie in bivoltine breed was also reported (CSR & TI, 1980).

The antiprotozoan chemicals, viz., tinidazole and metronidazole at different concentrations treated against KA × HM cross breed revealed that the per cent incidence of flacherie was nil at concentrations ranging from 10 ppm to 200 ppm in tinidazole and 6.66 and 4.00 per cent in 10 and 100 ppm respectively in metronidazole as against 20.7 per cent in control (Radha and Muthukrishnan, 1981). They also reported that use of antibacterial chemicals viz., cotrimoxazole and paushamycin at concentrations ranging from 5 - 200 ppm resulted in less than 7.0 per cent flacherie as against 20.7 per cent in control. The chemicals, tinidazole, metronidazole, cotrimoxazole and paushamycin at 10, 50, 100 and 200 ppm concentration resulted in higher larval weight, cocoon weight, shell weight and silk filament length compared to control. Radha *et al.*, (1981) reported that the antibiotic, enterocycline used at 25, 50 and 100 ppm concentrations were effective in reducing the flacherie below 3.0 per cent in CBV race as against 6.7 per cent in control and below 6.0 per cent in KP race which recorded 14.7 per cent mortality in control.

Samson (1987) concluded from his research work that 9.38 per cent bacterial flacherie was seen with administration of 100 ppm of penicillin alone and 32.0 per cent mortality in penicillin 100 ppm along with inoculation of *B. thuringiensis* var. *dendrolimus* as against 63.5 per cent mortality in untreated control.

Supplementation of mulberry leaves with antibiotics viz., streptomycin sulphate, gentamycin, cloxacillin and kanamycin at 0.05 and 0.1 per cent concentration resulted in lowering the occurrence of flacherie significantly compared to control and 0.1 per cent gentamycin resulted in maximum Effective Rate of Rearing (ERR) of 92.26 per cent, reducing flacherie by 5.41 per cent (Baig *et al.*, 1990) besides increasing the economic characters. Administration of 30 mg each of chloramphenicol, nalidixic acid, kanamycin and neomycin was found to be effective against *S. marcescens* (Sam Devadas, 1991). Dechu (1995) observed that mortality of *B. mori* due to infection with *Bacillus* sp. was less with 1500 ppm of bacterium DS and cloxacillin, 1000 ppm.

Administration of ampicillin @ 500 ppm reduced the incidence of flacherie from 63 to 39 per cent with an increase in larval, cocoon, shell weight and shell ratio by 12.0, 13.6, 32 and 1.3 per cent, respectively over the pathogen inoculated larvae (Sridar *et al.*, 2000).

Antibiotics norfloxacin and sparfloxacin were effective under *in vivo* condition leading to 73.58 and 77.36 survivability for 500 ppm and 75.48, 79.24 for 1000 ppm against *B. thuringiensis* (Manimegalai and Chandramohan, 2004 c). The antibiotic doxycycline hydrogen chloride was found to be effective against *B. thuringiensis* recording the lowest mortality of 18.67 and 16.00 per cent for 500 and 1000 ppm concentration respectively which were found to be on par with streptomycin (21.0, 18.67 per cent) (Manimegalai and Chandramohan, 2008).

Botanicals:

The plant products are gaining prominence as fungicides and bacteriocides due to their ecofriendly nature. Many compounds from hop plant, *Humulus lupulus* (L.) were known to inhibit

the growth of gram positive bacteria (Shimwell, 1937; Schmalreck *et al.*, 1975). The occurrence of substances strongly inhibitory to the growth of pathogens has been previously considered mainly as protectors of the plant against disease (Gaumann, 1950; Walker and Stahmann, 1955). Kushner and Harvey (1960) reported that needles of balsam fir, *Abies balsamea* (Linnaeus) contain substances strongly inhibitory to the growth of *Bacillus* sp. Their role in insect resistance to disease was also reported (Kushner and Harvey, 1962).

The acetate and ether extracts of *Thuja occidentalis* Lin. and alcohol and ether extracts of *Pinus banksiana* Lambert and *Picea mariana* (Miller) showed complete inhibition of *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* (Smirnov and Hutchinson, 1965). Maksymuk (1970) found the presence of antibacterial substances that inhibit the growth of *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* in leaves of 22 plants belonging to six orders viz., pinaceae, taxaceae, fagaceae, salicaceae, hamamelidaceae and leguminosae. It was observed that higher concentrations of petroleum ether, chloroform and ethanol extracts of *Acalypha indica* Linn, had activities quite comparable with commercial standard, gentamycin (10 µg) against *S. aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (Kulkarni and Bharathi, 1993).

Osato *et al.*, (1997) examined the activity of three extracts from the fruiting bodies of the tree, *Terminalia chebula* against *S. aureus* and 12 gram negative and gram positive bacteria. They found that gallic acid derivatives were more effective against *S. aureus* than other species of *Staphylococcus*.

The antibacterial effect of essential oil from rhizomes of *Curcuma caesia* (Roxb.) rich in curcumen, ionone and turmeron was demonstrated by Garg and Jain (1998). Aqueous extract of *Parthenium hysterophorus* L. was more effective in increasing the rate of survival in NB₁₈ (85.16%) and PM × NB₁₈ (89.0%) breeds compared to *Tridax procumbens* L. (83.0% in PM × NB₁₈) and water control (72.66% in NB₁₈ and 74.16% in PM × NB₁₈) (Mahesha *et al.*, 1999). Complete inhibition of nine strains of *S. aureus* at a concentration of 6.5 mg/ml of the leaf extract of *Goiaba* and *Coccus aureus* by different methods such as plate count, disc inhibition zone and turbidity was demonstrated by Gnan and Demello (1999).

Selvakumar *et al.*, (2001) reported the efficacy of seven plant products against the bacteria sp. isolated from diseased *B. mori*, viz., *Streptococcus* and *Staphylococcus* sp. which caused a mortality of 38.00 per cent and 30 per cent when inoculated at a dose of 10⁷ cells/ml. The growth promoting effect of plant products was also demonstrated (Rajashekar Gouda, 1991). The application of petroleum ether extract of *Psoralea corylifolia* L. and *Tribulus terrestris* L. increased larval weight, cocoon weight and shell ratio of *B. mori*.

Rambir singh *et al.*, (2002) reported the antibacterial activity in rhizome extracts of *Curcuma longa* against gram positive and gram negative bacteria. Ishita Chattopadhyay *et al.*, (2004) found that the curcumin and the oil fraction of turmeric suppressed the growth of *Streptococcus*, *Staphylococcus* and *Lactobacillus*.

Geer Mohammed Ishag *et al.*, (2005) reported the antibacterial activity of aqueous extract of *Emblica officinalis*. Garlic preparations showed a wide spectrum antibacterial activity against gram negative and gram positive bacteria including species of *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus* and *Bacillus* (Ellen Tattleman, 2005).

Aqueous extracts of sage and thyme were effective against *S. aureus* and *Enterococcus* sp. (Elasital *et al.*, 2005). Antimicrobial activity of *P. corylifolia* against many species of bacteria was reported by Yadava and Verma (2005). The combined plant extracts of black thyme fennel, sage wild tea and wild mint provided an excellent antibacterial effect against pathogenic bacteria compared to single plant extracts (Yasar *et al.*, 2005).

In vitro and *in vivo* studies conducted for the identification of effective botanicals for the management of bacterial flacherie of silkworm, *B. mori* revealed that the botanical, *Thuja orientalis* L. exhibited effectiveness under *in vitro* conditions by inhibiting the growth of *B. thuringiensis* at a dose of 1000 ppm. *Curcuma domestica* V. showed partial effectiveness at 40,000 ppm under *in vivo* conditions. *T. orientalis* at 10,000 ppm was the most effective in reducing the mortality caused by 01-TAD-01 and 01-CHI-01 strains of *B. thuringiensis* to 30.03 per cent and

36.00 per cent respectively as against 73.74 and 76.00 per cent mortality in the treated control (Manimegalai and Chandramohan, 2005d).

In vivo studies conducted with botanicals revealed that basil and asparagus were effective against *Staphylococcus* sp. with a mortality percentage of 13.33 and 22.20 per cent respectively, amla and boerhavia produced mortality of 16.60 and 17.60 per cent against *Bacillus* sp. respectively and basil, bael produced mortality of 15.50 and 17.70 per cent and were effective against *Klebsiella* sp. The mean mortality was 72.00 per cent in treated control for the pathogenic bacteria (Priyadharshini, 2006).

REFERENCES

- AFRIKIAN E.G. (1960) Casual agents of bacterial diseases of the silkworm and the use of antibiotics in their control. *J. Inv. Pathol.*, 2: 299-304.
- AIZAWA K. (1971) Strain improvement and preservation of virulence of pathogens. In: *Microbial Control of Insects and Mites*, H.D. Burges and N. W. Hussey (eds.), Academic Press, London and New York, pp. 655-672.
- AIZAWA K. (1976) Recent development in the production and utilization of microbial insecticides in Japan. *Proc. Int. Colloq. Invertebr. Pathol. 1st and 9th Annu. Meet. Soc. Invertebr. Pathol.*, pp.59-63.
- AIZAWA K. (1982) Microbial control of insects pests. In: "Advances In Agricultural Microbiology", N.S. Subba Rao (ed.). Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi, Bombay and Calcutta, pp. 397-417.
- AIZAWA K., FUJIYOSHI N. (1968) Selection and breeding of bacteria for control of insect pests in the Sericultural countries, *Proc. of Joint. United States – Japan Seminar on Microbial Control of Insect pests*, pp. 79-83.
- AIZAWA K., TAKASU T., KURATA K. (1961) Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the dust of silkworm rearing houses of farmers. *J. Seri. Sci. Jpn.*, 30: 451-455.
- AIZAWA K., KAWARABATA T., SATO F. (1962) Response of the silkworm, *Bombyx mori* to *Bacillus thuringiensis* Berliner. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 31: 253-257.
- AIZAWA K., FUJIYOSHI N., OHBA M., YOSHIKAWA N. (1975) Selection and utilization of *Bacillus thuringiensis* strains for microbial control. *Proc. Intersect. Congr., IAMS 1st, 1974*, 2: 597-606.
- ANGUS T.A. (1956) Association of toxicity with protein crystalline inclusions of *Bacillus sotto* Ishiwata. *Can. J. Microbiol.*, 2: 122-131.
- ANGUS T.A. (1967) Comparative toxicity of the parasporal inclusions of three entomogenous bacteria. *J. Invertebr. Pathol.*, 9: 256-260.
- ANGUS T.A., HEIMPEL A.M. (1956) An effect of *Bacillus sotto* on the larvae of *Bombyx mori*. *Can. Entomol.*, 88: 138-139.
- ANITHA T.P., SIRONMANI P., MEENA P., VANITHA RANI. (1994) Isolation and characterization of pathogenic bacterial species in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 34(1):97-102.
- ANONYMOUS. (1989) Annual Report. CSR&TI, Mysore. pp. 67 – 68.
- ARUGA H. (1994) Diseases of silkworms. In: *Principles of Sericulture* (Translated from Japanese). Oxford and IBH Publishing Company Ltd, New Delhi, Bombay, Calcutta, pp. 207-215.
- ARUGA H., TANADA Y. (1971) The cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm. University of Tokyo Press, Japan, p.5
- ASANO S., LIZUKA T. (1990) Protoxin from diamond shaped crystals from *B. thuringiensis* and insecticidal activity against the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 59(5): 375-380.
- BAIG M., NATARAJU. B., SAMSON M. V. (1990) Studies on the effect of antibiotics on the rearing performance and loss due to diseases in silkworm. *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 29(1): 54-58.

- BAIG M., PRADIP KUMAR. (1987) Silkworm disease and pest. In: Appropriate Sericulture Techniques, M.S. Jolly (ed.). Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, pp. 107-144.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., DATTA R.K., BAIG M., NATARAJU B., IYENGAR M.N.S. (1994) Efficacy of bleaching powder as a disinfectant against the pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 33(1): 23-26.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., NATARAJU B., DATTA R.K. (1996) Chlorine-di-oxide and Virkon – S as disinfectants against pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 35(1): 50-53.
- BANUPRAKASH K.G. (2001) Epizootiology of flacherie caused by *Bacillus thuringiensis* Berliner and relative toxicity of its subspecies to silkworm, *Bombyx mori* L. Ph.D, Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, 188 p.
- BENCHAMIN K.V. (1987) Disinfection and hygiene. A hand book for Sericulture Extension Workers. CSR & TI, Mysore. p. 87-92.
- BENCHAMIN K.V., JOLLY M.S. (1986) Principles of silkworm rearing. In: Proc. of seminar on "Prospects and Problems in Sericulture", S. Mahalingam (ed.), Madras. pp. 63-108.
- BENCHAMIN K.V., NAGARAJ C.S. (1987) Silkworm rearing techniques. Appropriate Sericulture Techniques. International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Mysore. p. 100.
- BERLINER E. (1911) Die "Schlaffsucht" der Mchlomottenraupe. Z. Gesamte Getreidewes, 3: 63-70.
- BOMAN H.G., NILSON – FAYE I., PAUL K., RAMSUSON T. (1974) Insect immunity – Characteristics of an inducible cell free antibacterial reaction in haemolymph of *Samia cynthia* pupae. Insect Immun., 10: 136-145.
- BROWN A. (1979) Pamphlet on cystazole. Brown a Burk Pharmaceutical (P) Ltd. Madras.
- CHINNASWAMY K., CHOZHAN V., ILANGO VAN, RADHA N.V. (1988) Effect of para formaldehyde, benzoic acid with lime as bed disinfectants for prevention of diseases. Natl. Sem. Pros. Prob. Seric. In India, 16-18 March. 1988, Department of Zoology, University of Madras, Vellore.
- CHITRA. C., KARANTH, N.G.K. AND VASANTHARAJAN, V.N. (1974) Studies on 'Sappe' disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. II. Effect of age of larvae on the manifestation of the disease. J. Invertebr. Pathol., 24: 218-252.
- CHISHTI M.Z., SOHAF K.A., KHAN M.A. (1991) Occurrence of bacterial disease of silkworm, *Bombyx mori* in Jammu and Kashmir state. Indian J. Seric., 30(1): 54-55.
- CHITRA C., BHANDARKAR A., KARANTH N.G.K., VASANTHARAJAN V.N. (1973) Studies on sappe disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. Isolation and characterization of pathogenic bacteria from diseased silkworm. Curr. Sci., 42: 373-376.
- CHITRA C., KARANTH N.G.K., VASANTHARAJAN V.N. (1975) Diseases of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. J. Scient. Ind. Res., 34: 386-401.
- CHUAN W.P., CHANG C. (1988) FAO Agricultural Services Bulletin, 73/2, Regional Sericulture Training Centre, Guangzhou, China. p. 17-21.
- CSR & TI (1980) Effect of antibiotics on cocoon crop incidence and loss due to diseases. Annual Report (1979-80). Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, pp. 112-114.
- CSR & TI (1989) Studies on the bacterial diseases of silkworm. Annual Report (1988-89), CSR and TI, Mysore, pp. 67-69.
- DANDIN S.B., JAYASWAL J., GIRIDHAR K. (2000) Hand book of Sericulture Technologies, Central Silk Board, Bangalore, 259 p.
- DASGUPTA M.R. (1950) Diseases of silkworm. Monograph on cottage industries. No.1, Govt. India Press, Calcutta, p. 25.
- DATTA R.K., BAIG M., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SELVAKUMAR T. (1998) Vijetha: An effective disinfectant. Indian Silk, 36(9): 12-13.
- DATTA R.K., BASAVARAJA H.K., MANO Y.K. (1996) Manual on Bivoltine rearing, maintenance and multiplication. p. 14.

- DECHU P.S. (1995) Role of antibiotics on the growth, development and incidence of disease in silkworm, *Bombyx mori* L. M.Sc. (Seri.) Thesis, UAS, Bangalore. 110.p.
- DESHMUKH A.D., DESHPANDE A.D. (1989) Bioefficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner against *Achaea janata* L. and *Bombyx mori* L. Entomon., 14(1&2): 91-94.
- ELASITAL, Z. Y. ASHOUR AERA AND KERRIT AMM. (2005) Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. Pak. J. Med. Sci., 21 (2): 187- 193.
- ELLEN TATTELMAN. 2005. Health effects of garlic. American Family Physician, 72: 103-106.
- ENOMOTO S., MORIYAMA H., IWANAMI S. (1987) Septicaemia occurrence in cocoons as related to silkworm rearing conditions. Japanese Agrl. Res. Olty. 21: 117-121.
- ESCAP UN (1990) Handbook of Pest and Disease Control of Mulberry and Silkworm. ESCAP UN – Thailand. p. 65.
- FAST P.G., ANGUS T.A. (1965) Effects of parasporal inclusions of *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* Ishiwata on the permeability of the gut wall of *Bombyx mori* L. larvae. J. Invertebr. Pathol., 7: 29-32.
- FAYE I., WYATT, G.R. (1980) The synthesis of antibacterial proteins in isolated fat body from cecropia silk moth pupae. Experientia., 36: 1325-1326.
- FROBISHER M., HINSDILL R.D., CRABTREE K.T., GOODHEART C.R. (1974) Fundamentals of Microbiology, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- FUJIWARA T., KUMARI K.V., NAGESWARA RAO S. (1992) Pebrine and its control, disinfection for pebrine disease. Bivoltine Sericulture Technology Development Project in India, CSR & TI, Mysore. p.9.
- GARG S.C., JAIN R.K. (1998) Antimicrobial efficiency of essential oil from *Curcuma caesia*. Indian J. Microbiol., 38: 169-170.
- GAUMANN E. (1950) Principles of Plant Infection, W.B. Brierley (ed.), Hafner Publishing Co., New York.
- GEER MOHAMMAD ISHAQ S., ZIA-UL-ARIFEEN B., DILAWER AHMAD G., MOINUDDIN S., ANNES AHMAD., KSHAMA DEVI. (2005) Hypotensive potential of aqueous extract of *Emblica officinalis* on anaesthetized dogs. JK Practitioner, 12(4): 213-215.
- GNAN S.O., DEMELLO M.T. (1999) Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous Goiaba extracts. J. of Ethnopharm., 68: 103-108.
- GOLDBERG H.S. (1959) Antibiotics – their chemistry and non medical uses. D Nonstrand Co., Princeton, New Jersey.
- GOVINDAN R., NARAYANASWAMY T.K., DEVAIAH M.C. (1998) Principles of Silkworm Pathology. Seri Scientific Publishers, Bangalore, 420.p.
- HANNAY C.L. (1953) Crystalline inclusions in aerobic spore forming bacteria. Nature, 172: 1004.
- HARDIE J.M. (1986) Bergey's manual of systematic bacteriology, Holt, J.G. (ed.). Williams and Wilkins, Baltimore. 2: 1043.
- HAYASKIYA K., NISHIDA J., MATSUMARA F. (1969) The production of antiviral substances, a red fluorescent protein in the digestive juice of the silkworm larvae. Appl. Ent. Zool., 4: 154-155.
- HEIMPEL A.M., ANGUS T.A. (1959) The site of action of crystalliferous bacteria in lepidopteran larvae. J. Insect. Pathol., 1: 152-170.
- HOFFMAN R.K. (1971) Toxic gases. In: Inhibition and destruction of the microbial cell. V.B. Hugo (ed.). London and New York, Academic Press. p.226.
- HORIE Y., WATANABE K. (1980) Daily utilization and consumption of dry matter in food by the silkworm, *Bombyx mori*. Appl. Ent. Zool., 18: 70-80.
- HORIE Y., WATANABE K., ITOT. (1967) Nutrition of the silkworm (*Bombyx mori* L.). Quantitative requirement of potassium, phosphorus, magnesium and zinc. Bull. Seric. Expr. Stn. 22(2): 181-193.
- HUKUHARA T., SATAKE S., SATO Y. (1981) Rhythmic contractile movements of the larval midgut of the silkworm, *Bombyx mori* J. Insect Physiol., 27: 469-473.
- IGNOFFO C.M., DUTKY S.R. (1963) The effect of sodium hypochlorite on the viability and infectivity of *Bacillus* and *Beauveria* spores on cabbage looper nuclear polyhedrosis virus. J. Insect Pathol., 5: 422-426.

- ISHIGURU T., MIYASONO M. (1979) A bioassay for toxicity of *Bacillus thuringiensis* using the force feeding method applied to the silkworm, *Bombyx mori* L. Jap. J. Appl. Entomol., 23(3): 141-150.
- ISHITA CHATTOPADHYAY, KAUSHIK BISWAS, UDAYBANDYO PADHYAY and RANAJIT BANERJEE. 2004. Turmeric and Curcumin: Biological actions and medicinal applications. Current Science, 87(1): 44-47.
- ISHIWATA S. (1901) On a kind of severe flacherie (sotto disease), Dainihon Sanshi Kaiho, 9: 1-5.
- ISHIWATA S. (1902) Examination of sotto disease, *Bacillus*. Kyoto Sangyo Koshujo Sanji Hokoku. 2: 346-347.
- ISHIWATA S. (1905) Sotto bacillus study, Dainihon Sanshi Kaiho, 14: 24-28.
- ITO T. (1960) Nutritive value of carbohydrates for the silkworm, *Bombyx mori* L. Nature, 187: 527-531.
- ITO T., ARAI N. (1965) Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. VIII. Amino acid requirements and nutritive effects of various proteins. Bull. Serie. Exp. Stn., 19: 345-373.
- ITO T. NIMINURA M. (1966) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori* L. its specific nutrient requirements and its nutrition in relation to the mineral nutrition of its host plant mulberry. Indian J. Exp. Biol., 4, 31-36.
- IWABUCHI H. (1908) Popular Silkworm Pathology. First Ed. Meinbundo, Tokyo.
- JANAKIRAMAN A.T. (1961) Disease affecting the Indian silkworm races. J. silkworm, 13: 91-101.
- JAYARAMAIAH M., KUBERAPPA G.C. (1978) Silkworm mycoses, UAS Technical report. University of Agricultural Sciences, Hebbal, Bangalore. 48: 1-85.
- JOLLY M. S. (1986) Disinfection and hygiene, pebrine and its control, Bulletin No. 5, CSR & TI, Mysore. p. 22-29.
- JYOTHI N. B., PATIL C.S. (1997) *Bacillus thuringiensis* as a bio insecticide. A threat? Indian silk, 35 (12): 11 – 12.
- KRISHNASASTRY K.S. (1994) Plant nutrition and productivity in silk industry. In: Lectures on Sericulture, G. Boraiah (ed.). SBS Publishers Distributors, Bangalore. pp.41-44.
- KRISHNASWAMI S. (1990) Special features of tropical sericulture and five crucial steps to successful silkworm rearing. Indian silk, 31(9): 27-34.
- KRISHNASWAMI S. (1994) A practical guide to mulberry silk cocoon production in tropics. Sriramulu Sericulture Consultants, Bangalore. pp. 1-101.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARAJ, S.J. (1973) Sericultural manual 2. Silkworm Rearing, FAO Agricultural Services Bulletin, Rome. p.131.
- KRISHNASWAMI S., KAMALA SINGH S., RAGHU RAMAN R., GEETA DEVI R.G., BENCHAMIN K.V. (1981) Chloramphenicol as a growth promoter in silkworm, *Bombyx mori* L. Proc. Seric. Symp. Semi., Coimbatore. pp. 130-132.
- KULKARNI C.V., BHARATHI. P. (1993) Inhibition of microbial inoculants by *Luffa tuberosa* (Roxb) under *in vitro* and *in vivo* Indian J. Microbiol., 33(3): 215-217.
- KUSHNER D.J. HARVEY G.T. (1960) Anti-bacterial substances in foliage and in gut contents of phytophagous insects. Can. Dept. Agr. Bi-Monthly Prog. Rpt., 16(5): 2-3.
- KUSHNER D.J., HARVEY G.T. (1962) Antibacterial substances in leaves : Their possible role in insect resistance to disease. J. Insect Pathol., 4: 155-184.
- LI. R., SANO Q. (1984) The relationship between quality of mulberry leaves and some economic characters during the later larval stage. Canye Kexue, 10(4): 197-201.
- LIAN AND LIU FUAN (1991) Silkworm Diseases, Oxford & IBH Publishing Co. Ltd., New Delhi, Bombay, Calcutta, p.74.
- LIU S.X., ZHONG W.B. (1988) The research channels in the prevention and control of silkworm disease review. Sericologia, 29(3): 287-295.
- LIU SHI XIAN (1984) Identification on the resistance of silkworm (*Bombyx mori*) races to six type of silkworm diseases. Sericologia, 24: 377-382.

- LOGANATHAN M., BALASUBRAMANIAN G., SUNDARA BABU P.C. (2002) The dose and time mortality responses of *Plutella xylostella* L. to *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*. Madras Agric. J., 89(7-9): 529-530.
- LOKANANTH R., SHIVASHANKAR K., KASIVISWANATHAN K. (1986) Effect of foliar application of micronutrients to mulberry on the yield and production of cocoons. Indian J. Seric., 25(1): 40-41.
- LOKANATHA R., SHIVASHANKAR K. (1986) Effect of foliar application of micronutrients and magnesium on the growth, yield and quality of mulberry (*Morus alba* L.). Indian J. Seric., 25(1): 1-5.
- MAHESHA H.M., RAJASHEKHARGOUDA R., RAYAR S.G. (1999) Extrafoliation of aqueous extract of botanicals on larval, cocoon and egg parameters of *Bombyx mori* L. Proc. of Natl. Sem. Trop. Seric., pp. 111-114.
- MAKSYMUK B. (1970) Occurrence and nature of antibacterial substances in plants affecting *Bacillus thuringiensis* and other entomogenous bacteria. J. Invertebr. Pathol., 15: 356-371.
- MAMADAPUR B.B. (1994) Botanicals with IGR activity on *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). M.Sc. (Agri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Dharwad, 137.p.
- MANIMEGALAI S. (2003) Bacterial pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. and their management, Ph.D. (Agril. Entomology). Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, p. 210.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2004a) Effect of drift of *Bacillus thuringiensis* Berliner on mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Ind. Acad. Seric., 8(2):26-29.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2004b) Cost effective bed disinfectants against flacherie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Proceedings of National workshop on "Sericulture Technology Transfer to farmers of SC & ST Population" 29-30th September 2004, Kongu Nadu College of Arts and Science, Coimbatore. pp 71-74.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2004c) Antibiotics for the management of bacterial flacherie of silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Ind. Acad. Seric., 8(2):41-48.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2005a) Bacterial flacherie of *Bombyx mori* Linn. A note on survey and predisposing factors. J. Appl. Zool. Res. 16 (2): 150– 152.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2005b) Biodiversity of bacterial pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. International conference on biodiversity of insects: Challenging issues in management and conservation (30th Jan-3rd Feb., 2006), (Abstracts) Bharathiar University, Coimbatore, p. 97.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2005c) Effect of leaf quality of mulberry in induction of bacterial flacherie of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., Madras Agric. J, 92 (1-3): 169-172.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2005d) Botanicals for the management of bacterial flacherie of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 45 (1): 55 - 58
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2006) Sakthi Seri Dust-a new bed disinfectant. Valarum velanmai, 32(6):25-26.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2008) Antibiotics for the management of bacterial flacherie of silkworm, *Bombyx mori* L. Madras Agric., J.95 (1-6):218-222.
- MANIMEGALAI S., SUBRAMANIAN A., CHANDRAMOHAN N. (2000) Induction of bacterial flacherie disease in silkworm, *Bombyx mori* L. by iron deficient mulberry leaves. Madras Agric. J., 87(7-9): 498-500.
- MATSUMURA S. (1930) On "Kutho-disease" a kind of flacherie which attacks mainly young larvae of the silkworm, *Bombyx mori* in Japan, Proc. 11th Congr. Zool. Padovg. pp. 1-4.
- MINAMIZAWA (1997) Moriculture – Science of Mulberry Cultivation (translated form Japanese) Hisashi Hirano and Akira Kurioka (eds.). Oxford and IBH Publishing Company Ltd. 431.p.
- NANAVATHY M.M. (1965) Silkworm from Grub to Glamour. Paramount Publishing House, Bombay, p.227.
- NARAYANAN K., JAYARAJ S., SUBRAMANIAN T. R. (1973) Sensitivity of *Bacillus thuringiensis* Berliner to two antibiotics and sulphanylamide. Hindustan Bull. 15: 14 – 15.

- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., BAIG M., SINGH B.D., SENGUPTA K. (1991) A report on the distribution of *Bacillus thuringiensis* in sericultural areas of Karnataka, India. *Indian J. Seric.*, 30(1): 56-58.
- NATARAJU B. BAIG M., BALVENKATASUBBAIAH M., VENKATAREDDY S., SINGH D.B., NOAMANI R.K.M. (1993) Comparative toxicity and infectivity titer of *Bacillus thuringiensis* to silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 32(1): 103-105.
- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SELVAKUMAR T. (2004) Studies on prevention / suppression of flacherie in silkworm, *Bombyx mori* L. Annual Report 2003-2004. CSR & TI, Mysore, P. 81.
- NATARAJU B., SIVAPRASAD V., DATTA R.K. (1999) Studies on thatte roga in silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 38(2): 149-151.
- NISHITSUTSUJI UWO J., ENDO Y. (1980) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* and endotoxin: General characteristics of intoxicated *Bombyx* larvae. *J. Invertebr. Pathol.*, 36: 180-186.
- NISHITSUTSUJI – UWO J., WAKISAKA Y. (1975) Sporeless mutants of *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 25: 355-361.
- OHBA M., AIZAWA K. W., FURUSAWA T. (1979) Distribution of *Bacillus thuringiensis* serotypes in Ehime Prefecture, Japan. *Appl. Entomol. Zool.*, 14: 340-345.
- OHBA M., AIZAWA K., SUDO S.I. (1984) Distribution of *Bacillus thuringiensis* in Sericulture farms of Eukuoka Prefecture, Japan. *Proc. of the Association for Plant Protection of Kyushu*. 30: 152-155.
- OSATO J.A., SANTIAGO L.A., REMO G.M., CUADRAM.S., MORI A. (1993) Antimicrobial and antioxidant activities of unripe papaya, *Life Sci.* 53: 1383-1389.
- PADDIDAM M. (1991) Rational deployment of *Bacillus thuringiensis* strains for control of insect pests in India. *Curr. Sci.*, 60(8): 464-465.
- PAILOT A. (1942) Les travaux de Pasteur sur la flacherie et les théories modernes sur la pathologie du tube intestinal du *Bacillus du murier*. *Ann. Epiphyt.* 71: 99-107.
- PASTEUR L. (1870) Etudes sur la maladie des vers a soie. Ganthiervillars. Paris, I & II: 327 and 332
- PATIL. C.S. (1994) New record of a bacterial pathogen, *Streptococcus faecalis* Andrews and Horder, on mulberry silkworm, *Bacillus mori* L. from India. *Sericologia*. 34: 54-55.
- PERIASWAMY K. (1994) Problems and prospects of sericulture. In: *Lectures on Sericulture*, Dr. G. Boraiah (ed.), SBS Publishers Distributors, Bangalore. pp. 293-306.
- PETERSETLOW. (2005) The bacterial spore: nature's survival package. *Culture*, 26 (2): 965 – 989.
- PRAMANIK K.K.A., SOMCHOUDHURY A.K. (2001) Adverse effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner on silkworm, *Bombyx mori* L. and other beneficial non target organisms. *J. Ent. Res.*, 25(1): 53-57.
- PRASAD N.R. (1999) Lime and its application in silkworm disease management. *Indian silk*, 38(7): 12-14.
- PRIYADHARSHINI P. (2006) Characterization and management of bacterial pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. with botanicals and bioinformatics. M.Sc. (Seri.) Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, p 93.
- RADHA N.V., MUTHUKRISHNANAN T.S. (1981) Effect of certain chemicals on the growth and disease control of silkworm, *Bombyx mori* L. *Proc. Seric. Symp. Semi.*, Tamil Nadu Agric. Univ., Coimbatore, India pp. 157-162.
- RADHA N.V., NATARAJAN T., MUTHUKRISHNAN T.S. OBLISAMY G. (1981) Effect of antibiotics on the growth and productivity of mulberry silkworm. *Prof. of Sericulture Symposium and Seminar*. Tamil Nadu Agric. Univ., Coimbatore. India. pp. 179-177.
- RAJASHEKHARGOUDA R. (1991) Studies on methods to increase silk yield of *Bombyx mori* L. Ph.D. Thesis, Tamil Nadu Agric. Univ., Coimbatore, India. 242 p.
- RAMBIR SINGH., RAMESH CHANDRA., MRIDULA BOSE., PRATIBHA KEHTA., LUTHRA. 2002. Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. *Curr.Sci.*, 83(6): 737-740.
- REARDON R., DUBOIS N., MCHANE W. (1994) *Bacillus thuringiensis* – for managing gypsy moth. File:// 11A/ *Bacillus thuringiensis* – silkworm. htm.

- SAM DEVADAS (1991) Some studies on the pathology of *Serratia marcescens* in silkworm, *Bombyx mori* L. Dissertation submitted to ICTRETS, Mysore, p.35.
- SAMSON M.V. (1987) Bacterial diseases of silkworm, *Bombyx mori*, Ph.D. Thesis, Univ. of Mysore, 137.p.
- SAMSON M.V. (1995) Flacherie in *Bombyx mori* L. Indian Silk, 33(11): 31-32.
- SAMSON M.V., BAIG M.A. (1976) Effect of antibiotics to check melting and on the various economic characters of mulberry silkworm, Annual Report (1975-76), CSR & TI, Mysore, pp. 103-106.
- SAMSON M.V., BAIG M.A., SHARMA S.D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SASIDHARAN T.D., JOLLY M.S. (1990) Survey on the relative incidence of silkworm diseases in Karnataka, India. Indian J. Seric., 29: 248-254.
- SAMSON M.V., CHANDRASHEKARAIAH (1998) The concept of disease resistance and its relevance in silkworm breeding. In: Silkworm Breeding, Sree rama Reddy (ed). Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, Calcutta, pp. 149-158.
- SARKAR A., QUADAR M.A., RAB M.A., AHMED S.U. (1992) Studies on the nutrient composition of some indigenous and exotic mulberry varieties. Bull. Sericul. Res., 3: 8-13.
- SAVANURMATH C.J., BASAVARAJAPPA S., HINCHIGERI S.B., INGALHALLI S.S., SINGH K.K., SANAKAL R.D. (1992) Relative incidence of silkworm viral disease in agroclimatic zones of Northern Karnataka, India. In: National Conference on Mulberry Sericulture Research, CSR & TI, Mysore. Dec. 10&11. p.123.
- SCHMALRECK A.F., TEUBER M., REININGES W., HARTI A. (1975) Structural features determining the antibiotic potencies of natural and synthetic hop bitter resins, their precursors and derivatives. Can. J. Microbiol., 21: 205-212.
- SELVAKUMAR T., NATARAJU B., DATTA R.K. (1999) Characterization of *Bacillus thuringiensis* varieties in relation to pathogenicity to silkworm, *Bombyx mori*. Indian J. Seric., 38(1): 75-78.
- SELVAKUMAR T., BALAVENKATASUBAIAH M., NATARAJU B. (2001) Studies on prevention and suppression of flacherie in silkworm, *Bombyx mori* L. Annual Report (2000-2001), CSR & TI, Mysore, p. 101.
- SENGUPTA K., PRADIP KUMAR., MURTHUZA BAIG., GOVINDAIAH (1990) Disease of mulberry silkworm and their control. In: Handbook of pest and disease control of mulberry and silkworm, ESCAP Publication, pp. 52-55.
- SHANTHA KUMAR. K., BHASKAR, R., GOVINDAN., RAVIKUMAR A. (2001) Effect of some bed disinfectants on cocoon and reeling parameters of silkworm, *Bombyx mori* L. Natl. Sem. Mulb. Seri. Res. India, 26-28, Nov. p. 190.
- SHIMWELL J.L. (1937) On the relationship between the staining properties of bacteria and their reaction towards hop antiseptic. Part I. Journal of the Institute of Brewing, 43: 111-118.
- SIDHU N.S., SINGH N.K. (1968) Resistance of silkworm mutant strains and breeds and inductive factors leading to the development of grasserie and flacherie disease in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 7: 27-31.
- SIKOROWSKI, P.P. (1985) Pecan Weevil Pathology. In.: W. W. Neel (ed.) Pecan weevil research perspective Quail Ridge Press, Jackson, MS. pp. 87 – 101.
- SINGH B.D., BAIG M., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S.D., SENGUPTA K., SIVARAMA REDDY N. (1990) Studies on the susceptibility of different breeds of silkworm (*Bombyx mori* L.) to disease under natural conditions. Indian J. Seric., 29(1): 142-144.
- SINGH B.D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S.D., BAIG M. (1994) Selection for resistance to a pathogenic bacterium in laboratory populations of the silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 34: 103-108.
- SIVAPRASAD V., SELVAKUMAR T., NATARAJU B. (1995) Synergistic effect of *Bm* IFV and *Streptococcus* in the causation of flacherie in silkworms. Current Technology Seminar on Silkworm Disease Management, Silkworm Rearing Technology and Mulberry Pathology, CSR & TI, Berhampore, West Bengal, October. p. 5.

- SMIRNOFF W.A., HUTCHINSON P.M. (1965) Bacteriostatic and bacteriocidal effects of extracts of foliage from various plant species on *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner commercial products against mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Third National Seminar on "Pros. Prob. of Seric. India" 16-18. March. 1998. Department of Zoology, University of Madras, Vellore.
- SREENIVASA A.G., PATIL B.V. (1998) Evaluation of *Bacillus thuringiensis* Berliner commercial products against mulberry silkworm *Bombyx mori* L. III National Seminar on Pros. Prob. of Seric. India. 16 – 18, March 1998, Department of Zoology, University of Madras, Vellore.
- SREENIVASA A.G., ASHOKA J., PATIL B.V. (2002) Evaluation of the effects of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) commercial products against mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 41(1): 54-56.
- SREE RAMA REDDY G. (1998) Silkworm Breeding. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt Ltd., New Delhi, Calcutta, 354 p.
- SRIDAR R., SUBRAMANIAN A., CHANDRAMOHAN N. (2000) Efficacy of antibiotics against bacterial flacherie of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 39(2): 176-177.
- STEINHAUS E.A. (1949) Principles of Insect Pathology. McGraw – Hill, New York. 1 – 719. P.
- STEINHAUS E.A. (1957) List of insects and their susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Berliner and closely related bacteria, Mimeo series, 4: 24 p.
- STEVENS J.M. (1963) Protective effects of several immunizing preparations that produce active immunity in *Galleria mellonella* (Linnaeus). J. Insect Pathol., 5: 129-130.
- SUBBA RAO M., SHIVAKUMAR G.R., MAGADUM S.B., DATTA R.K. (1997) Yield gap studies in Tamil Nadu. Indian silk, 36(4): 16-18.
- SUBBASWAMY M.R., SINGHVI N.R., MAGUDAM S.B., VEDAVYASA K., SRINIVASAN E.B., REDDY M.M., SARKAR A., DATTA R.K. (2001) Mulberry nutrition and flacherie occurrence at field level. Indian Silk, 40(8): 13-14.
- SUGAN R., RAGHURAMAN R., MANGALA NAYAK., VIJAYAKUMAR P.B. (1995) Studies on melting in bivoltines. Annual Report. (1994-95), KSSR & DI, Bangalore, pp. 48-49.
- SUGUN R. (2000) Studies on melting in bivoltine with reference to different seasons and region. Annual Report (1999-2000), KSSR & DI, Bangalore, p. 87.
- TANADA, V., KAYA. H. K. (1993) Insect Pathology. Academic Press, New York, NY. P. 318.
- THOMAS G.M. (1974) Diagnostic Techniques. In: Insect diseases, G.E. Cantwell (ed.). Marcel Dekker. Inc., New York, pp. 1-48.
- TOMY PHILIP S., GOVINDAIAH (1993) Mulberry disease control. A pre requisite for successful sericulture, Indian Silk, 32(5): 15-18.
- TOUMANOFF C., VAGO C. (1951) Largest pathogène de la flacherie des vers a 'Soil endémique dans la région des cevennes: *Bacillus cereus* var. *alesti* var nov. Compt. Rend. Acad. Sci., 233: 1504-1506.
- VASANTHARAJAN V.N., MUNIRATHNAMMA N. (1978) Studies on the silkworm diseases III. Epizootiology of septicaemic diseases of silkworm caused by *Serratia marcescens*. J. Indian Inst. Sci., 60: 33-42.
- VASANTHARAJAN V.N., MUNIRATHNAMMA N. (1980) Studies on the silkworm diseases phage and serotyping of *Bacillus thuringiensis* strains occurring in the sericultural tracts of Karnataka. Curr. Sci., 49: 248-249.
- VENKATAREDDY S., SINGH B.D., BAIG M., SENGUPTA K., GIRIDHAR K., SINGHAL B.K. (1990) Efficacy of Asiphor as a disinfectant against incidence of disease in silkworm, *Bombyx mori* in different agroclimatic zones of Karnataka, Natl. Sem. Mulb. Seri. Res. 26-28. Nov. KSSR & DI, Bangalore, pp. 191-192.
- VENKATESH C.M., PATIL C.S. (2001) Incidence of bacterial and viral diseases of silkworm *Bombyx mori* in different agroclimatic zones of Karnataka, Natl. Sem. Mulb. Seri. Res. 26 – 28, Nov. KSSR&DI, Thalaghattapura, Bangalore, India. Pp. 191 – 192.
- VISWANATH A.P. (1979) Effect of foliar spray of micronutrients on the yield and quality of mulberry (*Morus alba* L.). M.Sc. Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore.

- WALKER J.C., STAHMANN M.A. (1955) Chemical nature of disease resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 6: 351-366.
- WALTON J.R. (1977) A mechanism of growth promotion – nonlethal feed antibiotic induced cell wall lesions in enteric bacteria. In: *Antibiotics in Agriculture*. M. Woodbine (eds). Butterworths. London, pp. 259-264.
- YADAVA, R. V. AND V. VERMA. (2005) A new biologically active flavanol glycoside from *Psoralea corylifolia* (Linna). *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 7(4): 671 – 675.
- YASAR, S., O. SAGDIC AND A. N. KISIOGLU. (2005) In vitro antibacterial effects of single or combined plant extracts. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 3(11): 39– 43.
- YOKOYAMA T. 1962. *Synthesized Science of Sericulture* – Central Silk Board, Bombay, India. pp. 273-274.

PATHOGENES BACTERIENS DU VER A SOIE DU MURIER, *BOMBYX MORI* L. ET STRATEGIES DE LUTTE

S. MANIMEGALAI

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

Le ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L. est sensible à différentes maladies bactériennes, virales, fongiques et protozoaires. Les maladies provoquent 30 à 40 % de pertes de rendement en cocons. Les pathogènes bactériens à eux seuls entraînent 70 % des pertes dues aux maladies. Ils sont connus pour prendre une part active à la flacherie du ver à soie soit seuls soit en combinaison avec des virus contribuant aux épizooties. Les bactéries telles que *Serratia marcescens* et *Pseudomonas* sp. provoquent la septicémie des stades nymphaux ou pré-nymphaux, ce qui entraîne des cocons tachés et la diminution de la productivité du grainage. On sait que l'endotoxine de *Bacillus thuringiensis* Berliner détruit la paroi de l'intestin, ce qui entraîne la paralysie et la mort. On observe aussi que l'interférence synergétique entre différents pathogènes influence le développement de la maladie chez le ver à soie. Dans des conditions de stress, les formes non pathogènes peuvent aussi devenir pathogènes. Plusieurs facteurs, comme la mauvaise qualité de la feuille, les mauvaises pratiques de désinfection et de sélection des lignées, la variation des conditions environnementales prédisposent les larves à une maladie bactérienne. Bien qu'il y ait eu des études très tôt sur le rôle des bactéries dans la flacherie du ver à soie, il n'y a pas beaucoup d'informations sur les pathogènes sauf sur *B. thuringiensis*. Nous présentons donc une étude sur l'état des lieux, les pertes de rendement, la symptomatologie, la biodiversité des pathogènes, la sensibilité des lignées et les stratégies de lutte contre ces maladies.

Depuis quelques années, la sériciculture indienne est devenue une industrie agricole importante en raison de son potentiel en matière d'emploi et des opportunités de création d'entreprise, qui permettent des revenus stables et plus élevés. Des efforts intensifs ont été entrepris pour mettre au point des variétés de mûriers à rendement élevé, de nouvelles lignées de ver à soie, des technologies scientifiques d'élevage et des méthodes écologiques de lutte contre les maladies. Les éruptions fréquentes des maladies entraînent l'échec des récoltes, limite principale à l'obtention d'une productivité plus élevée en cocons. Le ver à soie est atteint par des pathogènes bactériens, viraux, fongiques et protozoaires (Das Gupta, 1950). Parmi les maladies, les pathogènes bactériens provoquent à eux seuls 70 % des pertes de cocons (Aruga et Tanada, 1971) et de 75 % (Nanavathy, 1965 ; Sidhu et Singh, 1968). Les bactéries provoquant les maladies sont en général classées comme des bactériémies, des septicémies et des toxémies et la maladie provoquée par les bactéries est en général appelée la flacherie. La flacherie chez le ver à soie est un syndrome caractérisé par la flaccidité du corps de la larve. A partir du rapport de Pasteur en 1870 sur les coques et les bacilles provoquant la flacherie, plusieurs auteurs ont signalé à plusieurs reprises qu'un large éventail de bactéries provoque la flacherie chez le ver à soie. *B. thuringiensis*, qui est inoffensif pour les être humains, le bétail et les plantes renferme des promesses considérables pour lutter contre plusieurs lépidoptères nuisibles (Steinhaus, 1957). La plupart des variétés de *B. thuringiensis* sont nocives pour le ver à soie. Les variétés Sotto et aizawai sont très toxiques plus qu'israelensis et dermastadiensis (Anonyme, 1989). Elles détruisent la paroi de l'intestin, ce qui entraîne la paralysie et la mort (Aizawa et Fujiyoshi, 1968, Aizawa, 1971).

Suite à l'identification des agents responsables de la flacherie, plusieurs mesures préventives et curatives ont été suggérées pour prévenir les pertes dues à la flacherie. La connaissance des facteurs

propices est indispensable. Les maladies bactériennes étant un problème important pour les sériciculteurs, nous avons rassemblé les informations publiées que nous présentons ici. Cette revue apporte des informations consistantes sur les pertes dues aux pathogènes bactériens, sur la symptomatologie des maladies, sur la pathogénicité, sur la sensibilité différentielle des lignées et sur les stratégies de lutte.

ETAT DES LIEUX ET PERTES DE RENDEMENT

Les connaissances sur les bactéries provoquant les maladies chez les insectes ont commencé à la fin du dix neuvième siècle avec l'étude de Pasteur (1870) sur la maladie de la flacherie du ver à soie. Pasteur a isolé *B. thuringiensis* de la poussière dans les zones d'élevage du ver à soie.

Plusieurs auteurs ont signalé des degrés différents de pertes de récolte en Inde à cause des maladies bactériennes. On a signalé des pertes de cocons provoquées par la flacherie de trente à quarante pourcent (Janakiraman, 1961 ; Chitra et coll., 1975). Vasantharajan et Munirathnamma (1980) ont observé que les souches de *Bacillus* formant des spores sont largement distribuées dans les zones séricicoles du Karnataka. Selon Baig et Pradip Kumar (1987), bien qu'il y ait eu une augmentation de la production de cocons grâce à l'amélioration des pratiques d'élevage du ver à soie, il y a toujours des pertes de récoltes de l'ordre de 15 à 20 % à cause des maladies. Une étude globale a montré une perte de 3,5 à 4 kg de cocons pour 100 pontes saines à cause des maladies, ce qui représente une perte annuelle de 200 000 US dollars dans le Tamil Nadu, sur une production totale de 300 000 pontes saines (CSR& TI, 1989). Samson et coll., (1990) ont réalisé une étude détaillée pendant trois ans sur l'incidence des maladies du ver à soie en étudiant 3032 récoltes de cocons. Leur rapport montre que, parmi les maladies, l'incidence de la flacherie bactérienne est la plus élevée (57,2 %), suivie par le virus de la polyédrose cytoplasmique (27,88 %), la polyédrose nucléaire (5 %), la pébrine (2,32 %) et la muscardine (0,48 %).

Chishti et coll., (1991) ont étudié l'incidence de la flacherie dans le Jammu et le Cachemire et les résultats de leur étude ont montré que l'intensité de l'infestation est de 3 à 8 % chez les vers élevés scientifiquement, par comparaison à 12 à 35 % chez les vers élevés dans des conditions d'absence d'hygiène. On observe l'infestation par la maladie principalement pendant les 4^{ème} et 5^{ème} âges. Dans les zones séricicoles du Karnataka, le *Bacillus* formant les spores n'est répandu que dans sept endroits sur 10 endroits testés, dont seulement deux s'avèrent pathogènes pour le ver à soie, avec une charge en spores de $2,00 \times 10^5$ et de $1,26 \times 10^5$ par gramme de poussière dans les deux endroits (Nataraju et coll., 1991).

Savanurmath et coll., (1992) ont signalé que, parmi les maladies de *B. mori*, la flacherie prédomine (47,9 %), suivie par la grasserie (42,6 %) et le kenchu (9,5 %). Ils ont observé une corrélation significative entre l'incidence des maladies et les paramètres météorologiques, tels que la température et l'humidité dans la zone sèche et dans la zone de transition du nord du Karnataka. Sivaprasad et coll., ont signalé une présence de la flacherie de 22,33 à 43,05 % pendant toute l'année (1995).

Dans une étude réalisée par Subba Rao et coll., (1997) dans les zones de Denkanikotai et de Krishnagiri dans la région de Dharmapuri, sur l'adoption de techniques intégrées par les fermiers dans la culture du mûrier, l'élevage des jeunes vers et des vers à soie du dernier âge et pour lutter contre les maladies, il s'avère que les fermiers avec des terrains de 0,8 à 1,2 ha et au-dessus ont obtenu le rendement moyen le plus élevé de 40-44 kg / 100 pontes saines avec l'hybride PM × NB4D2, par comparaison aux fermiers avec des terrains de 0, à 0,4 hectare, qui ont obtenu 30 à 40 kg / 100 pontes saines.

La flacherie, maladie du ver à soie est provoquée par différentes espèces de bactéries et de virus, individuellement ou en combinaison. *Streptococcus* et *Staphylococcus* sont les principaux responsables de la flacherie chez le ver à soie (Selvakumar et coll., 2001). Nataraju et coll., (2004) ont signalé une perte de récolte de vers à soie de l'ordre de 22 à 43 % à cause de la flacherie. Manimegalai et Chandramohan (2005a) ont réalisé une étude dans les zones traditionnelles du Tamil

Nadu et ont signalé une incidence de la flacherie de 5,56 ; 4,64 ; 7,12 et 11,08 % dans les zones de respectivement Coimbatore, Erode, Salem et Dharmapuri. Priyadharshini (2006) a entrepris une étude dans les zones traditionnelles d'élevage du ver à soie du Tamil Nadu et enregistré l'incidence maximum de la flacherie, à Dharmapuri, suivi par Salem, Coimbatore, Erode et Vellore.

SYMPTOMATOLOGIE

Les maladies bactériennes sont classées d'après le type de bactéries infestant l'organisme telles que les septicémies bactériennes, les maladies bactériennes des organes digestifs et les toxicoses bactériennes. La septicémie est caractérisée par un mouvement léthargique, une diminution de l'appétit, un raidissement du corps, un gonflement du thorax, un rétrécissement des segments abdominaux, des vomissements et par l'expulsion d'excréments mous ou comme des perles. La paroi se rompt en libérant un liquide qui sent mauvais. Le pathogène comprend des grands et des petits bacilles, des Streptocoques et des Staphylocoques. La maladie bactérienne des organes digestifs est généralement due aux Streptocoques et aux Bacilles et les symptômes incluent le rétrécissement des vers et la transparence de la tête. Une diarrhée se produit et le cadavre des vers infestés devient marron foncé, pourrit et libère une mauvaise odeur. La toxicose bactérienne est provoquée par *B. thuringiensis*. Les larves perdent leur appétit et deviennent léthargiques. La larve lève sa tête, développe des spasmes et des tremblements, vomit de la bile, se paralyse, s'effondre et meurt. La tête se replie, ce qui donne l'apparence d'un crochet et le corps est dur au toucher. On utilise le terme flacherie pour décrire la condition de mollesse chez *B. mori*, lorsqu'il souffre de toutes sortes de dysenteries (Krishnaswami et coll., 1973).

Selon Heimpel et Angus (1959), le premier symptôme externe d'intoxication est la cessation de l'alimentation et le ver à soie étant un insecte de Type I, il souffre de paralysie mortelle de tout le corps. Quand on dissèque l'intestin des larves de vers à soie atteints par *B. thuringiensis*, il s'avère que l'intestin avant et arrière bougent continuellement, tandis que l'intestin moyen arrête immédiatement de se contracter (Hukuhara et coll., 1981).

Lian et Liu Fuan (1991) pensent que les maladies bactériennes sont appelées maladie de la flacherie parce que les cadavres de vers qui en meurent, se ramollissent et pourrissent. Chitra et coll., (1975) ont signalé que les vers flachérisés ne perdent pas correctement leur peau après la mue et l'infestation par le pathogène provoque aussi la diarrhée.

Nitshitsutsji Uwo et Endo (1980) ont divisé la succession des symptômes de l'intoxication de *B. mori* en quatre stades arbitraires, c'est-à-dire l'apparence et la locomotion normales, l'absence d'alimentation, la légère léthargie, l'extrême léthargie et la paralysie complète.

Selon Lian et Liu Fuan (1991), la toxicose bactérienne aiguë entraîne la mort des vers entre 10 min. à quelques heures. Peu après la mort, le cadavre est étendu et semble dur au toucher avec une rétraction de la tête, qui lui donne une apparence de crochet.

Singh et coll., (1994) ont signalé que les vers atteints par des coques présentent des symptômes de rétrécissement du corps, de mollesse de la peau et du corps et de retard de la croissance. On observe la léthargie des corps au bout de 10 à 12 heures après l'infection bactérienne, suivie par une perte de la capacité des pattes à serrer, par la mollesse du corps et par la mort chez les larves souffrant de toxicose bactérienne chronique (Anitha et coll., 1994). Suga et coll., (1995) ont rapporté une mortalité plus élevée des chrysalides chez les cocons tachés pendant l'été dans les régions de Sirsi (30 %), d'Hassan (18,80 %), d'Anekal (24,50 %) et de K. R. Pet (37 %) dans le Karnataka.

Pendant les premiers stades, les larves affectées par la flacherie deviennent semi transparentes dans la partie antérieure de leur corps et leur liquide digestif, qui est au début de couleur jaune, devient marron foncé. Aruga (1994) a signalé une mauvaise croissance, un pourcentage élevé d'adipohémocytes dans l'hémolymphe, avec une quantité moins importante de protéines, de calcium et de chlorure de magnésium et la baisse de l'acidité de l'hémolymphe. La flacherie rouge provoquée par *S. marcescens* atteint l'intestin, ce qui entraîne une mauvaise digestion, l'invasion des tissus sensibles et l'interférence avec les activités physiologiques du ver à soie (Samson, 1995).

Les cellules de l'intestin moyen des larves intoxiquées ont des noyaux agrandis ; l'altération du réticulum endoplasmique en configurations ressemblant à des vacuoles, la désintégration des microvillosités et la déformation des plis de base de l'épithélium font partie des pathologies brutes du ver à soie infesté par *B. thuringiensis* (www.bacterialdiseases., htm, 2001). Les vers atteints par la flacherie sont inégaux, de taille légèrement plus petite et les vers continuent à se nourrir (Prasad, 1999). La larve devient molle et flasque, sa croissance est retardée, elle devient terne, vomit du liquide intestinal et des excréments, devient translucide, puis noire et sent mauvais (Dandin et coll., 2000). Les larves atteintes par *B. thuringiensis* présentent d'abord un noircissement du corps dans la zone du milieu du corps, puis dans les zones antérieure et postérieure (Manimegalai, 2003).

BIODIVERSITE DES PATHOGENES BACTERIENS

En 1901 et en 1902, Ishiwata a isolé une bactérie formant une spore sur des larves de *B. mori* malades. Ishiwata (1905) a décrit cette bactérie comme « *Bacillus* de la maladie Sotto ». En 1908, Iwabuchi et en 1915 et en 1916, Aoki et Chigasaki ont réétudié cette bactérie et l'ont appelée *Bacillus sotto*. En 1911, Berliner a isolé les espèces les plus connues de la bactérie cristallifère, *B. thuringiensis* sur des larves malades du papillon méditerranéen de la farine, *Anagasta kuhniella* (Zell.) obtenues dans la province de Thuringe en Allemagne. Paillot (1942) a isolé une bactérie formant une spore sur des chrysalides de vers à soie. Toumanoff et Vago (1951) ont isolé le *Bacillus cereus* var. *alesti* formant des spores pathogènes sur une larve infestée par la flacherie. Hannay (1953) a signalé que la pathogénicité de *Bacillus* pourrait être associée à des corps parasporaux en forme de diamant ou de cristaux s'étant formés dans le sporangium au moment de la formation de la spore.

Anitha et coll., (1994) ont isolé *Bacillus*, *Staphylococcus* et *Serratia* sur des vers à soie malades recueillis dans les zones de Madurai, Periyakulam, Dindigul et Virudhunagar dans le Tamil Nadu. Parmi les vers infestés recueillis, 34 % présentent une infestation par *Serratia*, 38 % des cas présentent le *Staphylococcus* et 28 % de cas présentent l'infestation par *Bacillus*.

Chitra et coll., (1973) du Karnataka ont isolé *Aerobacter cloacae*, *Achromobacter delmarvae* et *Achromobacter superficialis* de l'hémolymphe et *A. cloacae*, *A. superficialis*, *A. delmarvae*, *Pseudomonas boreopolis*, *Pseudomonas ovalis*, *Escherichia freundii* et *Staphylococcus albus* dans l'intestin moyen de larves de ver à soie souffrant de la flacherie. On a isolé les pathogènes bactériens sur des cadavres de *B. mori* et on les a divisés en gros en deux catégories, c'est-à-dire ceux qui se limitent à l'intestin et ceux qui entrent dans l'hémolymphe (Chitra et coll., 1975). On a isolé des souches pigmentées et non pigmentées de *Serratia marcescens* chez le ver à soie atteint par la maladie kenchu, qui entraîne une infestation mortelle, quand elle est associée à *Staphylococcus* sp. (Vasantharajan et Munirathnamma, 1978). On a isolé *Bacillus* formant des spores pathogènes dans des litières de ver à soie (Ohba et coll., 1979).

Enomoto et coll., (1987) ont signalé plusieurs bactéries septiques provoquant la septicémie chez des cocons de *B. mori*. Sur les bactéries septiques isolées, *Serratia* est la plus abondante et est présente en plus grande quantité pendant les saisons d'élevage de l'été et de l'automne dans la Préfecture d'Ibaraki au Japon. Nataraju et coll., (1991) ont isolé le *Bacillus* formant des spores dans des échantillons de litière des zones de Chamarajanagar, Attibele, Dharmapura, Bidar, Sisri et Chitradurga dans le Karnataka. Bien que de nombreuses souches de *B. thuringiensis* aient été isolées dans les sols, la plupart des souches utilisées dans la production commerciale d'insecticides microbiens ont été isolées sur des insectes malades (Reardon et coll., 1994).

Sengupta et coll., (1990) ont signalé plusieurs bactéries c'est-à-dire *B. thuringiensis*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus* sp. et *Serratia marcescens* du ver à soie et on les a trouvées individuellement ou en combinaison. Patil (1994) a observé *Streptococcus faecalis* chez des vers à soie malades en Inde. On a isolé les bactéries telles que *S. faecalis* var. *liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et le virus de la flacherie infectieuse sur des cadavres du ver à soie atteints par la flacherie et il s'avère qu'ils sont impliqués dans l'association synergétique provoquant la maladie (Nataraju et coll., 1999).

Les études sur les espèces de bactéries associées à la flacherie du ver à soie, *B. mori* dans le Tamil Nadu ont entraîné l'isolement de 43 souches dans des régions différentes. Elles indiquent une riche diversité des espèces de bactéries, avec 34,88 % d'entre elles qui appartiennent aux *Staphylococcus* sp., 4,64 % à *B. thuringiensis*, et 58,14 % à *Bacillus* sp. (Manimegalai, 2003). Priyadharshini (2006) a isolé *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella cloacae* et *Staphylococcus aureus* sur des cadavres malades.

PATHOGENICITE

La seule présence d'un microorganisme dans l'hémocoel ou dans le tissu infecté de l'insecte malade ne prouve pas qu'il s'agisse d'un pathogène. Il doit être virulent et doit être confirmé par la théorie du postulat de Koch.

Certaines souches de *B. cereus* sont parmi les pathogènes bactériens les plus virulents du ver à soie, *B. mori* (Steinhaus, 1949). Les bactéries formant des spores sont des pathogènes bactériens bien connus des insectes et plusieurs souches s'avèrent très toxiques pour *B. mori* (Angus, 1956 ; Aizawa et coll., 1961). Angus (1967) a signalé que quand on alimente les vers à soie avec des cristaux de *B. thuringiensis* var *sotto* et de *B. thuringiensis* var *entomocidus*, une paralysie se produit en 6 h avec 0,02 et 0,03 µg / g de larves. On peut détecter un battement de cœur jusqu'à 36 h chez certaines larves paralysées.

Selon Chitra et coll., (1973), le taux de mortalité varie chez le ver à soie infesté par différentes espèces de bactéries. L'infestation par différentes espèces de bactéries entraîne une mortalité importante et la majorité des morts se produit pendant la mue et également lorsque les vers sont sur le point de filer. Hukuhara et coll., (1981) ont observé que l'intervalle de temps qui intervient entre l'administration de la toxine et la paralysie de l'intestin moyen devient plus court alors que la dose augmente. *Serratia marcescens* n'est pas pathogène pour les insectes quand il est présent en petites quantités dans le tube digestif (Sikorowski, 1985), mais une fois qu'il entre dans l'hémocoel, il se multiplie rapidement et entraîne la mort entre un à trois jours (Tanada et Kaya, 1993). Enomoto et coll., (1987) ont signalé que l'injection de $6,0 \text{ à } 8,0 \times 10^2$ cellules bactériennes entraîne la mort des larves en 18 heures et la pathogénicité de *Streptococcus* et de *Bacillus* est plus faible que celle d'autres bactéries.

Asano et Lizuka (1990) ont testé l'activité insecticide de 20 souches de *B. thuringiensis* chez des larves du 5^{ème} âge et constaté qu'on n'observe une activité que chez les souches qui ont des peptides de 130-140 kDa. Parmi les huit *Bacillus* formant des spores isolés dans les zones séricicoles du Karnataka, seuls deux sont toxiques et les symptômes que présentent ces deux espèces de *Bacillus* sont typiques de *B. thuringiensis* (Nataraju et coll., 1991). Nataraju et coll., (1993) ont signalé que sur vingt trois variétés de *B. thuringiensis* évaluées par rapport à leur pathogénicité, seules huit s'avèrent pathogènes. Chez la var. *sotto* de *B. thuringiensis*, la suspension mère ($1,50 \times 10^7$ spores / ml) et ses dilutions ($3,00 \times 10^6$, $1,5 \times 10^6$, $7,50 \times 10^5$, 5×10^5 , $3,75 \times 10^5$ et 3×10^5 / ml) induisent respectivement 100, 100, 74, 77,72, 45 et 0,00 % de mortalité pendant le 2^{ème} âge. Anitha et coll., (1994) ont signalé que les var *sotto* et *aizawai* sont plus toxiques que les autres. Les valeurs de DL₅₀ sont de $5,9 \times 10^7$ pour *Bacillus* sp. et pour *Staphylococcus* sp. et de $2,4 \times 10^7$ pour *Serratia* sp.

Selon Selvakumar et coll., (1999), huit variétés de *B. thuringiensis*, c'est-à-dire *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, *alesti*, *kurstaki*, *galleriae*, *morrisoni*, *taumanoffi* et *wuhanensis* sont toxiques pour *B. mori*. *B. thuringiensis* *kurstaki* est très toxique pour *B. mori* et une concentration de 0,1 % de *B. thuringiensis* *kurstaki* entraîne 90 et 96,67 % de mortalité chez les larves du troisième et du quatrième âge de *B. mori*. Même une faible concentration de 0,01 % entraîne 56,67 % de mortalité chez les larves du 4^{ème} âge. Les valeurs de DL₅₀ pour les troisième, quatrième et cinquième âges sont respectivement de 0,02 ; 0,013 et de 0,089 % (Pramanik et Somchoudhury, 2001).

L'alimentation des larves de vers à soie avec 10^6 cellules de *Bacillus*, de *Staphylococcus* et de *Serratia* n'entraîne pas de mortalité en 48 heures. Cependant, quand on administre 10^7 cellules, on observe une mortalité dans les 48 heures. La DL₅₀ est de $5,90 \times 10^7$ cellules pour les infestations par

Bacillus et *Staphylococcus* et de $2,49 \times 10^7$ pour l'infestation par *Serratia* (Anita et coll., 1994). Selvakumar et coll., (2001) ont signalé que 1×10^7 cellules / ml de *Streptococcus* entraîne une mortalité de 30 %.

Les études sur la pathogénicité des isolats de *Bacillus* envers les lignées populaires polyvoltine $\times$ bivoltine, c'est-à-dire PM $\times$ NB₄D₂, PM $\times$ CSR₂ et BL₂₃ $\times$ NB₄D₂ et envers les lignées bivoltines c'est-à-dire CSR₄ $\times$ CSR₂, CSR₂ $\times$ CSR₄ et CSR₁₈ $\times$ CSR₁₉ révèlent que toutes les lignées sont sensibles aux deux isolats avec une mortalité comprise entre 69,23 et 99,20 % (Manimegalai, 2003).

Les spores et les protéines associées des souches de *B. thuringiensis* entraînent des intoxications mortelles et des infestations chez un ensemble de larves d'insectes (Peter Setlow, 2005). Manimegalai et Chandramohan (2005b) ont signalé des variations de la pathogénicité à *B. thuringiensis* parmi les lignées. *B. thuringiensis* entraîne 69,23 %, 96 % et 96,72 % de mortalité respectivement chez PM $\times$ CSR₂, PM $\times$ NB₄D₂ et BL₂₃ $\times$ NB₄D₂.

Les études de pathogénicité réalisées avec les souches bactériennes pour les larves du ver à soie du 3^{ème} âge de l'hybride PM $\times$ CSR₂ montrent que les souches, *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. et *Klebsiella cloacae* entraînent une mortalité jusqu'à respectivement 73,70 ; 72,00 et 73 % (Priyadharshini, 2006).

Sensibilité des lignées aux pathogènes bactériens :

Chaque groupe d'insectes a son propre mécanisme de défense inné contre les épidémies de maladies. Cette réponse immunitaire varie d'une race à l'autre et peut être classée comme élevée, moyenne et faible en fonction de l'amplitude de la réponse. L'évaluation des différentes races d'après l'amplitude des réponses qu'elles présentent pourrait donc contribuer à mettre au point des races résistantes à la maladie qui se développent sainement même dans des conditions de contamination (Samson et Chandrashekaraiyah, 1998).

Compte tenu de l'importance de *B. thuringiensis* comme agent de lutte biologique, des essais ont été réalisés pour mettre au point des races de vers à soie résistant à *B. thuringiensis* (Aizawa et coll., 1962). Fast et Angus (1965) considèrent que la perméabilité de l'intestin chez le ver à soie à cause de l'administration de l'endotoxine est plus élevée chez la lignée du ver à soie blanche allemande, par comparaison à la lignée zébrée britannique. Des doses sub-léthales de vaccins de bactéries pathogènes chez les individus de plusieurs espèces d'insectes provoquent une réponse acquise à une infestation bactérienne ultérieure qui pourrait persister pendant plusieurs jours (Stevens, 1963). L'état de protection acquis correspond temporairement à la synthèse de plusieurs protéines dans l'hémolymphe (Boman et coll., 1974 ; Faye et Wyatt, 1980).

Liu Shi Xian (1984) a signalé que les différentes races de vers à soie présentent une variation de leur sensibilité aux différentes maladies. Selon Krishnaswami et coll., (1973), la résistance à la maladie n'est que comparative et il n'existe pas de race de ver à soie qui soit totalement résistante aux maladies. Jayaramaiah et Kuberappa (1978) ont signalé qu'aucune race de ver à soie n'est immunisée ou complètement résistante aux maladies.

On a signalé que Pure Mysore acquiert 12 % de résistance en plus à *B. thuringiensis* au bout de sept générations d'élevage continu, avec une dose sub-léthale du pathogène (Samson, 1987). Singh et coll., (1990) ont étudié la sensibilité de différentes races aux maladies. On a observé l'incidence la plus élevée de flacherie chez NB₇ (10,44 %) suivie par NB₁₈ (10,17 %), NB₄D₂ (9,95 %) et par PCN (9,60 %). On enregistre la présence minimum de flacherie chez PM (4,33 %) suivie par *C. nichii* (5,89 %) et par MY₁ (7,83 %). Les races bivoltines présentent les taux les plus élevés de maladie et les polyvoltines enregistrent l'incidence minimum des maladies pendant les différentes saisons. Selon Sree Rama Reddy (1998), les mécanismes de résistance chez les insectes sont peu développés et l'immunité acquise est éphémère, ce qui représente donc un obstacle majeur pour exploiter ces mécanismes dans la lutte contre la maladie.

Lutte contre la flacherie bactérienne :

La lutte contre les maladies du ver à soie est une des composantes vitales de la réussite de l'élevage du ver à soie pour un rendement et une qualité plus élevés des cocons. La désinfection correcte de la pièce d'élevage, des équipements d'élevage et de la litière prévient et lutte contre les maladies du ver à soie et maintient des conditions d'hygiène, en créant un environnement sans pathogène pour la production de cocons (Liu et Zhong, 1988). C'est donc l'un des facteurs clés de la réussite en sériciculture (ESCAP UN, 1990).

MESURES DE PRECAUTION

Apport de feuilles de bonne qualité :

Les facteurs propices à l'éruption de la flacherie sont la salissure des feuilles de mûrier, la carence en chlorophylle des feuilles, la contamination des feuilles, la culture des mûriers à l'ombre ou avec un excès d'engrais azoté, les saisons chaude et humide, les fluctuations de température et d'humidité, les mauvaises pratiques de désinfection, l'accumulation d'excréments dans les claies d'élevage et l'effet de dérive des pesticides bactériens utilisés chez d'autres cultures, pour lutter contre les nuisibles.

Matsumara (1930) a signalé que les vers nourris sur des feuilles contenant peu de chlorophylle souffrent de flacherie. Dès le début, on a souligné l'importance de plusieurs biomolécules telles que les protéines, les sucres, les acides aminés ainsi que d'autres dans l'alimentation du ver à soie (Ito, 1960 ; Ito et Arai, 1965 ; Li et Sano, 1984). De nombreux auteurs ont signalé le rôle de la nutrition par rapport à la croissance, au développement et à la performance générale des cocons (Yokoyama, 1962 ; Horie et Watanabe, 1980 ; Benchamin et Jolly, 1986). Les micronutriments sont maintenant devenus importants non seulement pour la productivité du mûrier, mais aussi pour la santé du ver à soie. On a constaté qu'on peut améliorer la qualité de feuilles de mûrier grâce aux micronutriments, comme le magnésium, le fer, le manganèse et le cobalt (Ito et Niminura, 1966 ; Horie et coll., 1967), le manganèse (Viswanath, 1979) et le zinc, le fer, le magnésium et le bore (Lokanath et Shivashankar, 1986 ; Lokanath et coll., 1986). Krishnaswami et coll., (1973) ont observé que la croissance et le développement des larves de ver à soie et les caractères économiques des cocons sont affectés par l'alimentation avec des feuilles de mauvaise qualité. Ils ont aussi suggéré que la santé et le développement des larves de ver à soie sont étroitement liés à la qualité et également à la quantité de feuilles consommées. Il est essentiel de procéder à une alimentation avec une grande quantité de feuilles de mûrier de très bonne qualité pour éviter la flacherie. Les feuilles cultivées avec trop peu de soleil, un temps sec, à l'ombre, avec un manque d'application d'engrais sur le terrain, les feuilles boueuses ou poussiéreuses, flétries ont une mauvaise valeur nutritive et cela nuit à la santé des larves en particulier pendant les premiers stades larvaires.

Même quand les larves de ver à soie saines ne sont pas inoculées avec le pathogène, la maladie se déclare souvent et ce type d'infestation s'appelle l'induction. Le phénomène d'induction se produit pour une raison ou pour une autre (Aruga, 1994). Selon lui, la production de cocons est fortement influencée par la qualité de la feuille de mûrier et l'une des raisons principales à l'éruption de la maladie de la flacherie est la feuille de mûrier de mauvaise qualité.

La qualité de la feuille se réfère à la qualité de la feuille de mûrier, l'unique alimentation des larves de ver à soie. La nutrition des larves de ver à soie dépend de la feuille de qualité. On peut en gros diviser la méthode pour évaluer la qualité de la feuille de mûrier en trois catégories, c'est-à-dire l'évaluation des caractères chimiques des feuilles de mûrier et la détermination des caractères physiques et biologiques des feuilles (Minamizawa, 1997).

Selon Lian et Liu Fuan (1991) la qualité de l'alimentation, le niveau de température et de ventilation ambiantes sont directement liés au niveau de résistance des vers aux maladies et aux conditions hostiles. L'alimentation avec des feuilles trop mûres conduit aussi à l'incidence de flacherie (Krishnaswami, 1990 ; Sarkar et coll., 1992). Tomy Philip et Govindaiah (1993) ont signalé que la feuille de qualité contribue environ à 38,1 % à la réussite de la récolte de cocons. La performance

de la race de ver à soie est influencée par la teneur en nutriments de la feuille (Periyasamy, 1994), l'hygiène, la méthode d'élevage, la qualité de la feuille, facteurs environnementaux (Krishnaswami, 1994) et la qualité de la feuille en termes de texture, de teneur en protéines, de capacité de rétention de l'eau et de teneur en nutriments (Krishnaswamy, 1994). Il a aussi souligné le besoin en nutriments secondaires tels que le calcium, le magnésium et le soufre qui sont nécessaires respectivement pour supporter le stress en humidité, pour prévenir la chlorose de la feuille et pour l'activation des enzymes. La qualité de la feuille de mûrier associée à la désinfection et aux conditions d'hygiène décident du succès de la récolte de vers à soie (Datta et coll., 1996). Selon Suman (2000), le principal facteur responsable des taches chez les lignées NP₂, KSO₁ et NB₂D₂ est la qualité de la feuille. Manimegalai et coll., (2000) ont signalé que l'alimentation avec des feuilles chlorotiques induit la flacherie chez l'hybride PM × NB₂D₂, tout en diminuant les caractères économiques, tels que le poids de la larve, le poids du cocon, la richesse soyeuse et la longueur du filament du cocon. La mortalité corrigée enregistrée à cause de l'alimentation avec des feuilles chlorotiques est de respectivement 41,50 et 59,26 % avec la méthode d'élevage avec des pousses et avec des feuilles. Venkatesh et Patil (2001) ont observé une corrélation significative entre les paramètres biochimiques de la feuille et l'incidence des maladies bactériennes et virales chez le ver à soie. Les vers à soie nourris avec des feuilles carencées en phosphore ont une croissance lente et leurs cocons ne présentent pas de symptômes de la flacherie (Subbaswamy et coll., 2001).

Manimegalai et Chandramohan (2005b) ont signalé que les feuilles carencées en fer, en association avec la souche virulente de *B. thuringiensis* à une dose de 10⁹ spores / ml et de 2,5 × 10⁹ spores / ml, donnent la mortalité la plus élevée de respectivement 81,83 et 99,14 %, suivies par la souche virulente associée avec de la feuille normale (64,58 et 96,53 %).

Comment éviter la dérive de *B. thuringiensis* :

Avec le début des problèmes dus à l'utilisation continue d'insecticides, tels que la résistance, la résurgence et les résidus, l'intérêt pour l'utilisation de *B. thuringiensis* s'est développée car il s'est avéré efficace contre un ensemble important de nuisibles.

Dès les années 1960 au Japon, on a eu peur d'utiliser ces agents chez *B. mori* et on a suggéré d'utiliser des souches de *B. thuringiensis* à faible toxicité pour le ver à soie, mais à toxicité élevée pour les nuisibles (Aizawa et Fujiyoshi, 1968 ; Aizawa et coll., 1975 ; Aizawa 1976 et 1982). Les auteurs ont signalé que les préparations de *B. thuringiensis* sont pratiquement inoffensives pour l'être humain, les animaux domestiques, la vie sauvage, les plantes, les abeilles et les insectes bénéfiques, sauf pour les vers à soie. Au cours des années, plusieurs chercheurs ont démontré la toxicité de *B. thuringiensis* pour le ver à soie (Ishiguro et Miyasono, 1979 ; Ohba et coll., 1984 ; Deshmukh et Deshpande, 1989 ; Pramanik et Somchoudhury, 2001).

Nishitsutsuji – Uwo et Wakisaka (1975) ont estimé qu'il existe un risque de dispersion de *B. thuringiensis* par le vent, ce qui entraînerait des dégâts importants dans les zones séricicoles. Paddidama (1991) a signalé que la majorité des formulations commerciales de *B. thuringiensis* sont basées sur des sous espèces de la souche kurstaki, HD-1 et sont fortement toxiques pour le ver à soie. Il a souligné qu'il était nécessaire d'évaluer que les souches ne présentent pas de risque et il a entrepris une recherche concernant sa dérive réalisée au Japon. Les résultats indiquent que les vers à soie élevés sur des feuilles de mûrier cueillies à plus de 70 m de parcelles vaporisées avec *B. thuringiensis* se développent normalement.

Jyothi et Patil (1997) ont considéré que des études détaillées et complètes sur l'utilisation de *B. thuringiensis* à proximité des cultures de mûrier étaient nécessaires surtout à Kolar et dans les autres zones du Karnataka où la sériciculture et la culture des légumes sont toutes les deux pratiquées de manière intensive. Les auteurs ont considéré que la plupart des souches de *B. thuringiensis* sont infectieuses pour *B. mori* et quand les spores sont déplacées dans la magnanerie, elles infestent les vers à soie, ce qui entraîne une propagation supplémentaire de la maladie. Si les spores sont transférées dans la muraille, elles restent viables dans le sol pendant plus d'un an, car elles sont résistantes aux conditions hostiles.

Govindan et coll., (1998) ont suggéré que les préparations de *B. thuringiensis* ne devraient pas être utilisées n'importe où, près de l'environnement d'élevage et si cela est nécessaire il faudrait employer une souche qui n'est pas pathogène pour le ver à soie et il faudrait calculer une distance minimum pour une utilisation sans risque. Les résultats de cette étude sur le délai de sécurité de différents produits à base de *B. thuringiensis* disponibles dans le commerce tels que BTK-I, BTK-II ; Dipel 81, Delfin et BARC ont révélé que, tous les produits à base de *B. thuringiensis* sont toxiques pour les vers à soie d'âges différents avec différentes méthodes d'alimentation. Les produits présentent moins de risques quand on procède à l'alimentation avec des feuilles ayant été traitées 45 jours avant (Sreenivasa et Patil, 1998). D'après les études sur la dérive réalisées par Sreenivasa et coll., (2002), il est clair que le Dipel 81, se propage à une distance entre 5 et 20 m avec respectivement un asperseur portable ou actionné mécaniquement.

La vaporisation d'une formulation de *B. thuringiensis* à une distance de 50 et 75 m s'avère sans risque avec respectivement un asperseur manuel en présence et en absence d'une culture barrière. Une distance de 70 à 90 m est sans risque pour l'aspersion avec un asperseur actionné mécaniquement en présence et en absence de culture barrière (Manimegalai et Chandramohan, 2004a).

Désinfectants chimiques :

Les termes désinfectant et antiseptique sont utilisés pour décrire les produits chimiques qui tuent ou empêchent la croissance des micro-organismes en agissant d'une ou de plusieurs manières. Le désinfectant pourrait coaguler les protéines, désactiver les enzymes et provoquer l'oxydation par la décomposition des enzymes sur la surface du micro-organisme, l'hydrolyse, le dérangement de la membrane cellulaire et la modification de la perméabilité de la membrane cellulaire (Thomas, 1974).

On a observé une diminution de la viabilité et de l'infectiosité de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* grâce au traitement avec de l'hypochlorure de sodium à 0,05 et 0,5 % pendant une à 30 minutes. La diminution est corrélée avec le temps d'exposition et avec la concentration d'hypochlorure (Ignoffo et Dutky, 1963). On a pris conscience de l'importance du formol commercial avec la formaldéhyde de 35 à 38 % pour la désinfection de la pièce d'élevage avant la levée, en raison de son effet bactéricide et sporicide (Hoffman, 1971). On peut l'utiliser comme agent désinfectant car elle agit en privant les pathogènes d'oxygène et son efficacité augmente avec l'augmentation de la température au dessus de 24° C (Jolly, 1986 ; Chuan et Chang, 1988).

Krishnaswami et coll., (1973) ont signalé l'utilisation de formol à 2 % pour stériliser la surface de l'œuf de *B. mori* et la pièce d'élevage. Non seulement, on peut l'utiliser pour se débarrasser de n'importe quelle infestation, mais aussi comme mesure prophylactique. On utilise beaucoup une solution à base de chlorure de chaux comme désinfectant pour tuer les pathogènes comme les bactéries, les protozoaires et les champignons. Le chlorure de chaux commercial contient 30 à 34 % de chlore actif, qui n'est pas stable. Cependant, on l'utilise comme germicide à différentes proportions qui se rapportent à la concentration de chlore actif et une solution aqueuse de chlorure de chaux (d'oxyde de calcium) de 0,5 à 5 % est excellente dans un but similaire (Frobisher et coll., 1974).

Jolly (1986) a signalé que le chlorure de chaux appelé poudre de chlorure de chaux est plus utile dans les maisons d'habitation - magnaneries que l'on ne peut pas rendre étanches à l'air. C'est le désinfectant le plus approprié pour une magnanerie de type ouvert (Baig et Pradip Kumar, 1987). Samson (1987) a obtenu une diminution de l'incidence de la flacherie de 50 à 60 % en traitant les feuilles de mûrier avec du formol à 0,1 %, avec de l'hypochlorure de sodium à 0,1 % et du chlorure de chaux à 0,1 %. On a signalé que l'efficacité de la désinfection chimique dépend de trois facteurs, c'est-à-dire la concentration, la durée du traitement et la température ambiante (Benchamin, 1987 ; Fujiwara et coll., 1992).

Le chlorure de chaux très puissant avec 1 % (p / v) de chlore disponible (composé de 80 % de chlore) exerce une action contre le virus de la flacherie, les bactéries, le virus de la polyédrose, les champignons et la pébrine (Chuan et Chang, 1988 ; Fujiwara et coll., 1992). Balavenkatasubbaiah et coll., (1994) ont signalé que le chlorure de chaux à 4 et 5 % s'avère plus efficace que le formol à 2 % contre les spores de *B. thuringiensis* car le formol n'est pas adapté aux magnaneries qui ne sont pas

étanches à l'air. On a signalé que le désinfectant, le dioxyde de chlore, est un agent d'oxydation puissant, deux fois plus puissant que l'hypochlorure de sodium et 2,5 fois plus puissant que le chlore (Balavenkatasubbaiah et coll., 1996). Il s'avère que c'est un désinfectant efficace en laboratoire et sur le terrain et son utilisation est recommandée dans la magnanerie-maison d'habitation. Manimegalai et Chandramohan (2004b) ont signalé l'efficacité *in vivo* de Disfect à 1000 ppm contre *B. thuringiensis*, qui produit une zone d'inhibition de 14 mm

Désinfectants de litière :

La désinfection fait partie intégrante d'un élevage sain et réussi du ver à soie puisqu'elle a pour but la destruction totale des pathogènes provoquant les maladies. Il est important de désinfecter le corps du ver à soie et le siège d'élevage avec des désinfectants de litière pour contenir la contamination secondaire et pour améliorer les conditions d'hygiène pendant l'élevage (Dandin et coll., 2000).

Chinnaswamy et coll., (1988) ont observé que le saupoudrage de paraformaldéhyde à 2 % + de l'acide benzoïque à 2 % + de la chaux à partir du 3^{ème} âge jusqu'à la formation des cocons est efficace pour lutter contre les maladies et aussi pour améliorer les caractères économiques. Jawale et Tayade (1987) ont observé l'effet bénéfique des désinfectants de litière, c'est-à-dire de l'acide benzoïque, du kaolin, du paraformaldéhyde, de la poudre de curcuma et de la chaux sur la croissance et pour lutter contre les maladies.

Selon Baig et Pradip Kumar (1987), on pourrait prévenir les maladies par une désinfection correcte des magnaneries et des équipements et par la stérilisation de la surface de la larve et de la litière en appliquant des désinfectants de litière, car il n'existe pas de mesures curatives pour lutter contre elles. On utilise du paraformaldéhyde comme désinfectant de litière sous forme de poudre comme composant du Resham Keet Oushadh ou d'autres désinfectants chimiques (Benchamin et Nagaraj, 1987). On a aussi signalé l'efficacité du formol (à 1 et à 2 %) et du chlorure de chaux (à 5 %) comme désinfectants de litière (CSR&TI, 1989). Venkata Reddy et coll., (1990) ont suggéré l'utilisation d'asiphor à 2 %.

Samson a étudié l'effet *in vivo* des désinfectants, c'est-à-dire du paraformaldéhyde et de l'acide benzoïque chacun à 2 % dans de la chaux et en combinaison sur les vers à soie. Ces traitements diminuent l'incidence de la flacherie de 52 à 63 % par rapport au témoin. Datta et coll., (1998) ont signalé que le Vijetha est un désinfectant du corps du ver à soie et de la litière, dont la formulation unique est efficace contre les maladies du ver à soie, c'est-à-dire la pébrine, la grasserie, la flacherie et la muscardine dans des conditions variées. La saison a un effet sur l'efficacité du Vijetha, dont l'utilisation entraîne une amélioration du rendement en cocons de 10 kg / 100 pontes saines ou un gain supplémentaire de production de 30 %. Prasad a montré l'efficacité de la chaux comme désinfectant de litière.

L'évaluation *in vivo* de neuf produits chimiques individuels et de trois combinaisons chimiques comme désinfectants de litière révèle que la combinaison de paraformaldéhyde (à 2 %) + acide salicyclique (à 2 %) + M-PABA (à 0,5 %) + chaux (à 94 %) donne les meilleurs résultats pour le taux de survie, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse (Banuprakash et coll., 2001). Shantha Kumar et coll., (2001) ont signalé que les désinfectants de litière, le Resham Jyothi, le latex et le Sanjeevini donnent un poids de cocon, un poids de coque, une richesse soyeuse, une longueur de filament de cocon significativement plus élevés et un nombre plus faible de cocons par kg, de cocons défectueux, et de rendement à la bassine. Manimegalai et Chandramohan (2006) ont fait une démonstration sur le Sakthi Seri Dust, un désinfectant à large spectre et d'un bon rapport qualité prix.

Antibiotiques :

On a attribué l'action bénéfique des antibiotiques à leur activité de conditionnement de la composition de la flore intestinale, à leur rôle potentiel comme facteurs de croissance, à leur efficacité biologique dans l'augmentation de la conversion de la nourriture en poids corporel et à leur activité potentielle de lutte contre les maladies (Goldberg, 1959 ; Walton, 1977). Afrikian (1960) a signalé que l'alimentation des larves de ver à soie une fois par jour avec des feuilles trempées dans 500 unités

/ ml d'antibiotique, c'est-à-dire de streptomycine, d'auréomycine et de tétracycline maintient des conditions bactériostatiques dans l'intestin des larves pendant 16 à 24h. La soie obtenue à partir de larves nourries sur de la streptomycine et de la tétracycline est supérieure à celle du témoin. Narayanan et coll., (1973) ont signalé l'effet d'inhibition de la croissance de *B. thuringiensis* par le chloramphénicol et la tétracycline. On a aussi signalé l'efficacité de la streptomycine, de la cloxacilline, de la kanamycine et de la gentamycine à 0,05 et 0,1 % pour diminuer la mortalité due à la flacherie chez une lignée bivoltine (CSR & TI, 1980).

Les produits chimiques antiprotozoaires, c'est-à-dire le tinidazole et le metronidazole à différentes concentrations, pour traiter l'hybride KA × HM révèlent que le pourcentage de flacherie est nul avec des concentrations de tinidazole comprises entre 10 ppm et 200 ppm et de 6,66 et 4 % avec 10 et 100 ppm de metronidazole contre 20,7 % chez le témoin (Radha et Muthukrishnan, 1981). Ils ont aussi signalé que l'utilisation de produits chimiques antibactériens, c'est à dire le cotrimoxazole et la pausamycine à des concentrations comprises entre 5 et 200 ppm entraîne moins de 7 % de flacherie, contre 20,7 % chez le témoin. Les produits chimiques tels que le tinidazole, le metronidazole, le cotrimoxazole et la pausamycine à des concentrations de 10, 50, 100 et 200 ppm entraînent un poids de larve, un poids de cocon, un poids de coque et une longueur de filament de soie plus élevés par comparaison au témoin. Radha et coll., (1981) ont signalé que l'antibiotique entérocyline utilisée à des concentrations de 25, 50 et 100 ppm est efficace pour diminuer la flacherie en dessous de 3 % chez la race CBV, contre 6,7 % chez le témoin et en dessous de 6 % chez la race KP, qui enregistre une mortalité de 14,7 % chez le témoin.

Dans son travail de recherche Samson (1987) a observé 9,38 % de flacherie bactérienne avec l'administration de seulement 100 ppm de pénicilline et 32 % de mortalité avec 100 ppm de pénicilline et l'inoculation de *B. thuringiensis* var. *dendrolimus*, contre 63,5 % de mortalité chez le témoin non traité.

L'enrichissement des feuilles de mûrier avec des antibiotiques, c'est-à-dire avec du sulfate de streptomycine, de la gentamycine, de la cloxacilline et de la kanamycine à une concentration entre 0,05 et 0,1 % entraîne une diminution significative de la présence de flacherie, par comparaison au témoin et la gentamycine à 0,1 % donne un Taux Effectif d'Elevage maximum de 92,26 %, en diminuant la flacherie de 5,41 % (Baig et coll., 1990), tout en augmentant les caractères économiques. L'administration de 30 mg de chloramphénicol, d'acide nalidixique, de kanamycine et de néomycine s'avère efficace contre *S. marcescens* (Sam Devadas, 1991). Dechu (1995) a observé que la mortalité de *B. mori* en raison de l'infestation par *Bacillus* sp. est moins importante avec 1500 ppm de bactérie DS et 1000 ppm de cloxacilline.

L'administration de 500 ppm d'ampicilline diminue l'incidence de la flacherie de 63 à 39 %, avec une augmentation du poids de la larve, du cocon, de la coque et de la richesse soyeuse de respectivement 12,0 ; 13,6 ; 32 et 1,3 %, par rapport aux larves inoculées avec le pathogène (Sridar et coll., 2000).

Les antibiotiques telles que la norfloxacine et la sparfloxacine sont efficaces dans des conditions *in vivo*, en permettant une capacité de survie de 73,58 et 77,36 % avec 500 ppm et de 75,48 ; 79,24 avec 1000 ppm contre *B. thuringiensis* (Manimegalai et Chandramohan, 2004c). L'antibiotique chlorure doxycycline hydrogène s'avère efficace contre *B. thuringiensis* en enregistrant la mortalité la plus faible de 18,67 et de 16 % avec une concentration de respectivement 500 et 1000 ppm, ce qui est à égalité avec la streptomycine (21,0 ; 18,67 %) (Manimegalai et Chandramohan, 2008).

Les produits botaniques :

Les produits à base de plantes prennent de l'importance comme fongicides et bactériocides en raison de leur nature écologique. On sait que de nombreux composés du houblon, *Humulus lupulus* (L.) inhibent la croissance des bactéries gram positives (Shimwell, 1937 ; Schmalreck et coll., 1975). On a déjà pris conscience de la présence de substances inhibant fortement la croissance des pathogènes principalement comme protecteurs de la plante contre les maladies (Gaumann, 1950 ; Walker et Stahmann, 1955). Kushner et Harvey (1960) ont signalé que les aiguilles du sapin baumier, *Abies*

balsamea (Linnaeus) contiennent des substances inhibant fortement la croissance de *Bacillus* sp. On a aussi signalé leur rôle dans la résistance de l'insecte à la maladie (Kushner et Harvey, 1962).

Les extraits acétate et éther de *Thuja occidentalis* Lin. et les extraits d'alcool et d'éther de *Pinus banksiana* Lambert et de *Picea mariana* (Miller) présentent une inhibition complète de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* (Smirnov et Hutchinson, 1965). Maksymuk (1970) a constaté la présence de substances antibactériennes qui inhibent la croissance de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* dans les feuilles de 22 plantes appartenant à six ordres, c'est-à-dire les pinacées, les taxacées, les fagacées, les salicacées, les hamamélidacées et les légumineuses. On a observé que les concentrations élevées d'extraits d'éther de pétrole, de chloroforme et d'éthanol d'*Acalypha indica* Linn ont des activités assez comparables à l'étalon commercial, la gentamycine (10 µg) contre *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Kulkarni et Bharathi, 1993).

Osato et coll., (1997) ont examiné l'activité de trois extraits de corps fructifères de l'arbre *Terminalia chebula* contre *S. aureus* et contre 12 bactéries gram négatives et gram positives. Ils ont constaté que les dérivés de l'acide gallique sont plus efficaces contre *S. aureus* que d'autres espèces de *Staphylococcus*.

Garg et Jain (1998) ont démontré l'effet antibactérien de l'huile essentielle des rhizomes de *Curcuma caesia* (Roxb.) riche en curcumène, en ionone et en turmérone. L'extrait aqueux de *Parthenium hysterophorus* L. est plus efficace pour augmenter le taux de survie des lignées NB₁₈ (85,16 %) et PM × NB₁₈ (89,0 %), par comparaison à *Tridax procumbens* L. (83 % chez PM × NB₁₈) et au témoin traité à l'eau (72,66 % chez NB₁₈ et 74,16 % chez PM × NB₁₈) (Mahesha et coll., 1999). Gnan et Demello (1999) ont démontré l'inhibition complète de neuf souches de *S. aureus* avec l'extrait de feuille de *Goiaba* et de *Coccus aureus* à une concentration de 6,5 mg / ml avec différentes méthodes telles que le compte des plaques, la zone d'inhibition du disque et la turbidité.

Selvakumar et coll., (2001) ont signalé l'efficacité de sept produits à base de plantes contre les espèces de bactéries isolées sur *B. mori* malade, c'est-à-dire les espèces *Streptococcus* et *Staphylococcus*, qui provoquent une mortalité de 38 % et de 30 % quand on les inocule à une dose de 10⁷ cellules / ml. On a aussi montré l'effet de promotion de la croissance des produits à base de plantes (Rajashekar Gouda, 1991). L'application de l'extrait d'éther de pétrole de *Psoralea corylifolia* L. et de *Tribulus terrestris* L. augmente le poids larvaire, le poids du cocon et la richesse soyeuse de *B. mori*.

Rambir Singh et coll., (2002) ont signalé l'activité antibactérienne des extraits du rhizome de *Curcuma longa* contre des bactéries gram positives et gram négatives. Ishita Chattopadhyay et coll., (2004) ont constaté que le curcumin et la fraction d'huile du curcuma suppriment la croissance de *Streptococcus*, de *Staphylococcus* et de *Lactobacillus*.

Geer Mohammed Ishag et coll., (2005) ont signalé l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Emblica officinalis*. Les préparations à base d'ail présentent un large spectre d'activité antibactérienne contre les bactéries gram négatives et gram positives y compris contre les espèces *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus* et *Bacillus* (Ellen Tattleman, 2005).

Les extraits aqueux de sauge et de thym sont efficaces contre *S. aureus* et *Enterococcus* sp. (Elasital et coll., 2005). Yadava et Verma ont signalé l'activité antimicrobienne de *P. corylifolia* contre de nombreuses espèces de bactéries. Les extraits combinés de thym noir, de fenouil, de sauge, de thé sauvage et de menthe sauvage apportent un excellent effet antibactérien contre les bactéries pathogènes par comparaison aux extraits individuels de ces plantes (Yasar et coll., 2005).

Les études *in vitro* et *in vivo* réalisées sur l'identification de substances botaniques efficaces pour lutter contre la flacherie bactérienne du ver à soie, *B. mori*, ont révélé que la substance botanique, *Thuja orientalis* L. est efficace dans des conditions *in vitro*, en inhibant la croissance de *B. thuringiensis* à une dose de 1000 ppm. *Curcuma domestica* V. présente une efficacité partielle à 40 000 ppm. dans des conditions *in vivo*. *T. orientalis* à 10 000 ppm est le plus efficace pour diminuer la mortalité provoquée par les souches 01-TAD-01 et 01-CHI-01 de *B. thuringiensis* qui est respectivement de 30,03 et 36 %, contre une mortalité de 73,74 et de 76 % chez le témoin traité (Manimegalai et Chandramohan, 2005d).

Les études *in vivo* réalisées avec des substances botaniques ont révélé que le basilic et l'asperge sont efficaces contre *Staphylococcus* sp. avec un pourcentage de mortalité de respectivement 13,33 et 22,20 %, l'amlâ et le boerhavia entraînent respectivement une mortalité de 16,60 et de 17,60 % contre *Bacillus* sp., le basilic et le bael donnent une mortalité de 15,50 et de 17,70 % et sont efficaces contre *Klebsiella* sp. La mortalité moyenne est de 72 % chez le témoin traité avec des bactéries pathogènes (Priyadharshini, 2006).

NEW APPEARANCE OF MELANIZATION IN THE SILKMOTH, *BOMBYX MORI*

KOHI YAMAMOTO*, YOICHI ASO & HIROSHI FUJII

Faculty of Agriculture, Kyushu University Graduate School, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan.

Previously, we revealed that dopa quinine imine were favourable substrates for the melanin synthesis factor (MSF) in the silkmoth, *Bombyx mori* and 5,6-dihydroxyindole was detected as the product catalysed by MSF. In this study, we further characterized MSF of the silkmoth. We investigated a series of substrate analogues and related compounds as possible substrates and inhibitors of the catalysis. Indole derivatives including 5-hydroxyindole-2-carboxylic acid and indole-2-carboxylic acid were able to inhibit the enzyme. Thus indoles with a carboxylic group at position 3 were strong inhibitors of the enzyme. Furthermore, we showed that the MSF was a metal enzyme. Together, we provided new aspects of the melanin synthesis in the lepidopteran.

Keywords: Activity, *Bombyx mori*, Dopachrome, Lepidoptera, Melanin.

INTRODUCTION

In insects, melanization is observed in a variety of phenomena: pigmentation, wound healing and melanotic encapsulation (Hirima & Riddiford, 1988; Li *et al.*, 1994). Therefore, elucidation of the melanization mechanism would lead to better understanding of the crucial events in insects (Hirima & Riddiford, 1988). The melanin biosynthetic pathway has been discussed and it was found that there were three principal steps (Mason, 1948). The first step of the pathway includes the hydroxylation of tyrosine to 3-(3,4-dihydroxy-phenyl) alanine (DOPA) and, in the second step, the conversion of DOPA to DOPA quinine imine (DQI) is occurred. Tyrosinase (EC 1.14.18.1) and phenoloxidase (EC 1.10.3.1) are key enzyme in first and second steps (Cabanes *et al.*, 1987). The third step contains the conversion of DQI to 5, 6-dihydroxyindole (DHI), but information on reactions involved in this step is limited. DQI oxidation and polymerization was thought to proceed spontaneously through a series of highly reactive intermediates resulting in production of melanin polymer (Mason, 1948). Recently, some regulatory factors, catalysing a reaction in third step, have been detected in *Hyalophora cecropia*, *Manduca sexta*, *Drosophila melanogaster* and *Aedes aegypti* (Anderson *et al.*, 1989; Sugumaran & Semensi, 1991; Li & Nappi, 1991). In the silkmoth, *B. mori*, we also identified similar factor, so-called melanin synthesis factor (MSF) (Aso *et al.*, 1995). In this paper, we deal with properties of MSF in *B. mori*. The enzyme active site and its structural requirements of MSF from the silkworm, *B. mori*, were examined in relation to the product of the MSF catalysis.

MATERIALS AND METHODS

Insects and hemolymph:

* Correspondence author: Kohji Yamamoto, Faculty of Agriculture, Kyushu University Graduate School, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan. Fax +81-92-624-1011. Email: yamamok@agr.kyushu-u.ac.jp

Fifth instar larvae of the silkworm, *B. mori* were reared on mulberry leaves at the Institute of Genetic Resources, Kyushu University (Fukuoka, Japan). Hemolymph was collected in liquid nitrogen, lyophilized and kept at -80°C until needed.

Assay for MSF:

All operations were performed at 30°C . In a quartz cuvette, 0.4 ml of 10 mM L-DOPA was mixed with 0.1 ml of 27 mM potassium ferricyanide and incubated for 2.5 min. After 1.5 ml of 0.1 M sodium acetate (pH 5) was added to the mixture and incubated for 10 s more, the reaction was started by the addition of 0.1 ml of MSF solution. Absorbance at 475 nm was monitored by a Hitachi U-3210 spectrophotometer (Tokyo, Japan). One unit was defined as the amount of MSF capable of decreasing the absorbance by 0.01 per min. under these conditions.

Preparation of MSF:

Unless otherwise noted, preparation of MSF was carried out, according to the previous report (Yamamoto *et al.*, 1999). Protein was measured with a Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad Lab.) using bovine serum albumin as a standard protein.

HPLC analysis:

Inhibition analysis with indole analogues was done on a Cosmosil 5C18 column with a Waters 625 LC system (Tokyo, Japan). The reaction mixture was prepared in the same conditions as described above and then 0.1 ml of the mixture was taken and added to 0.2 ml of the mobile phase: 0.1 M potassium phosphate (pH 2.1) : methanol = 85:15 (v/v). A sample (0.1 ml) was injected onto the Cosmosil column and the eluate was monitored at 280 nm with a Waters 991 J photodiode assay detector. Relative amount of resolved compound was evaluated by measuring the area of the corresponding peak.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of indole analogues on MSF activity:

In melanin synthesis pathway, the reaction in the third step has been studied. For example, it was reported that one of the regulatory factors catalysed the direct decarboxylation of DQI to yield DHI (Anderson *et al.*, 1989; Sugumaran and Semensi, 1991; Li and Nappi, 1991). Other group showed that this reaction was a tautomerization (Aroca *et al.*, 1990). To estimate the structural features for substrate recognition by the active site of the MSF in the silkworm, we constructed a new assay method (Aso *et al.*, 1995). Since most of the intermediates formed during the melanin synthesis are reactive and unstable, it is hard to detect these intermediates. Using this assay, we found that MSF was able to degrade DQI (Aso *et al.*, 1995).

We assayed MSF with some substrates including indole analogues (Fig. 1 and Table I). Table I showed that 5-hydroxyindole-2-carboxylic acid (HIC) was the best inhibitor for the enzyme, since the inhibition rate was 27%. In addition, the MSF activity was inhibited in the presence of indole-2-carboxylic acid (22%). L-tryptophan has been described as a competitive inhibitor of dopachrome tautomerase (Aroca *et al.*, 1990). However, L-tryptophan (5mM) did not inhibit the enzymic activity at all (Table I). HIC and indole-2-carboxylic acid were inhibitors of the enzyme, suggesting that the carboxylic group at position 2 of the substrate is necessary. Fig. 2a showed the percentage of residual MSF activity versus inhibitor concentration of HIC. We found that the competitive pattern was revealed in Fig. 2. The presence of the carboxylic groups increased the affinity of the inhibitor for the enzyme. This carboxyl group could interact to MSF competitively with the 2-carboxylic group of the authentic substrate. Since 5-hydroxyindole and HIC inhibited MSF activity, hydroxyl group at position 5 of the indole ring could also be important. The hydroxyl group might also interact with a different site on the enzyme active site.

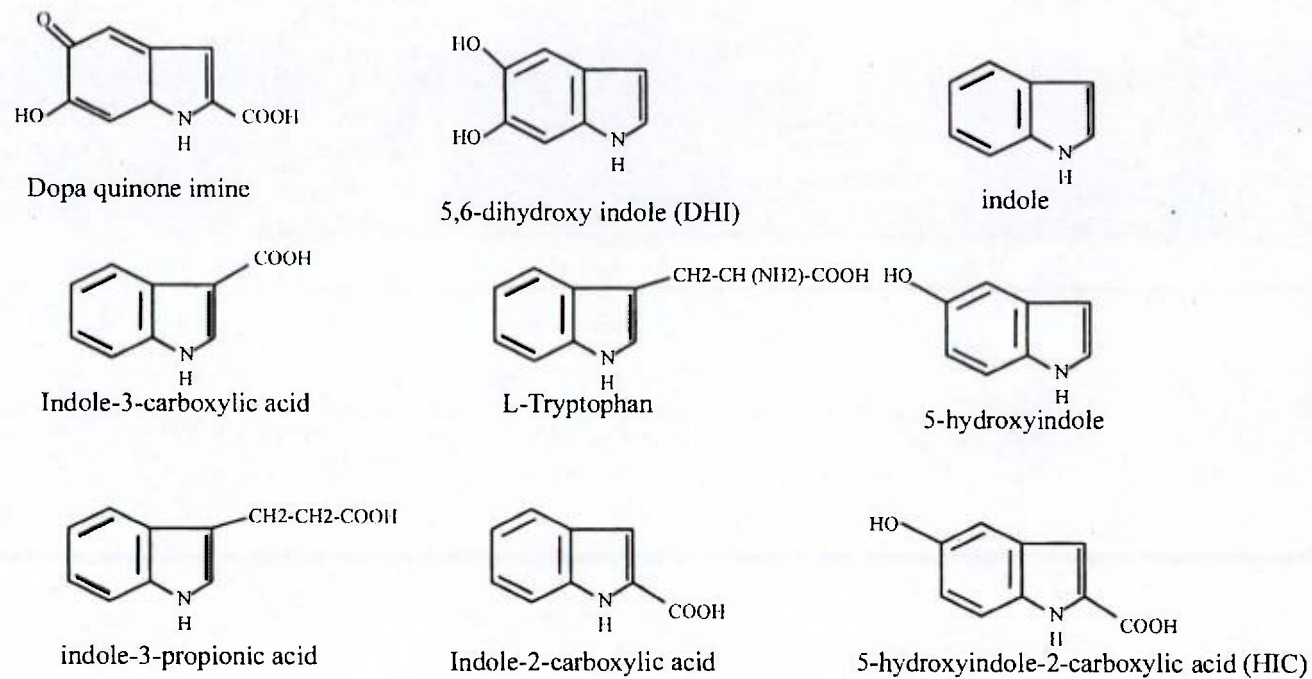


Fig. 1. Structure of possible analogous substrates of dopachrome tautomerase.

Fig. 1. Structure de substrats analogues possibles de la dopachrome tautomérase.

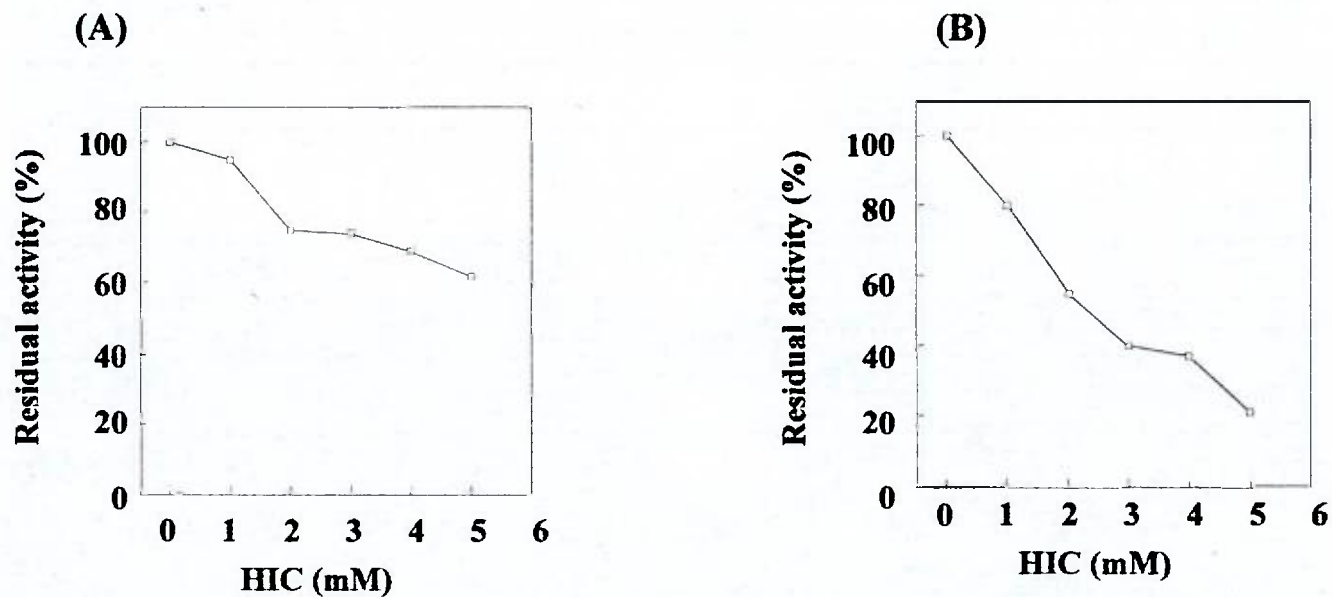


Fig. 2. Effect of HIC on MSF catalysis.

The effect of HIC on MSF activity (A) and production of DHI (B) were examined. The value from the assay mixture without HIC was set to 100%. Residual activity (%) was compared to the value without HIC and calculated in the presence of various amounts of HIC.

Fig. 2. Effet de l'HIC sur la catalyse du MSF.

On examine l'effet de l'HIC sur l'activité MSF (A) et sur la production de DHI (B). On fixe la valeur du mélange du dosage sans HIC à 100 %. On compare l'activité résiduelle (%) à la valeur sans HIC et on la calcule en la présence de quantités variables d'HIC.

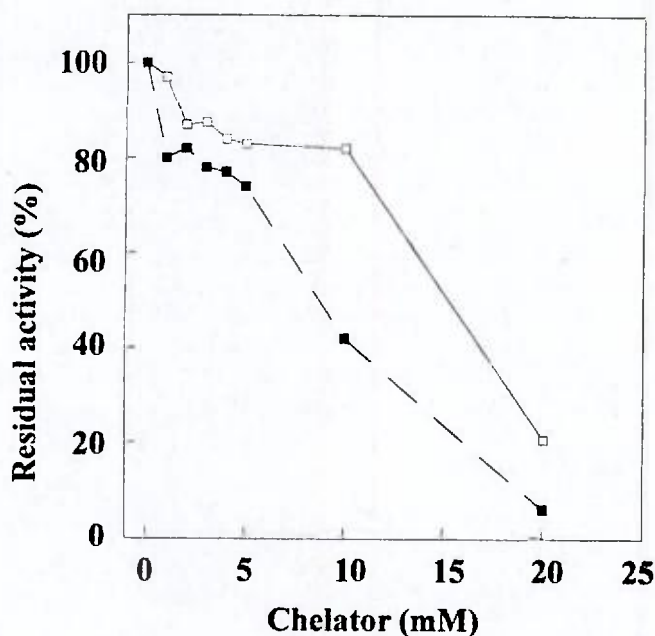


Fig. 3. Effect of 2,2'-dipyridyl and 1,10-phenanthroline on the activity.

Incubation condition and enzyme activity described in Materials and Methods. The residual activities were expressed by closed square (2,2'-dipyridyl) and open square (1,10-phenanthroline), respectively. The value from the assay mixture in the absence of chelators was set to 100%. Residual activity (%) was compared to the value without chelators and calculated in the presence of various amount of chelators.

Fig. 3. Effet du 2,2- dipyridyl et du 1,10-phénanthroline sur l'activité.

La condition d'incubation et l'activité de l'enzyme sont décrites dans Matériels et Méthodes. On exprime les activités résiduelles respectivement par le carré fermé (2,2'-dipyridyl) et par le carré ouvert (1,10-phénanthroline). On fixe la valeur du dosage du mélange à 100% en l'absence de chélateurs. On compare l'activité résiduelle (%) à la valeur sans chélateurs et on la calcule en la présence d'une quantité variable de chélateurs.

Table I. Effect of indole analogues on the activity.

Tableau I. Effet des analogues indole sur l'activité.

Analogues	Inhibition (%)
Indole	0
5-hydroxyindole	8
Indole-2-carboxylic acid	22
Indole-3-carboxylic acid	13
Indole-3-propionic acid	5
5-hydroxyindole-2-carboxylic acid	27
L-tryptophan	0
N-acetyl-L-tryptophan	5
N-acetyl-L-Tryptophanamide	1

All reagents were used at concentrations of 5 mM. / Tous les réactifs sont utilisés à des concentrations de 5mM.

Effect of HIC on MSF activity:

We already identified the product of the MSF-catalysed reaction and the mixture containing MSF and DQI was analysed by reverse-phase HPLC (Aso *et al.*, 1995). To confirm that HIC was an inhibitor for MSF, the change in the area corresponding to DHI was measured in the presence of HIC. The result indicated that HIC could interact with the active site of MSF. The above experiments suggested that the recognition of HIC by MSF needs the presence of a carboxyl group at position 3 and hydroxyl group located at position 5 and 6 on the indole ring. The interaction between the enzyme and the carboxyl group would be electrostatic and therefore the electric charge is necessary for the interaction.

Effect of chelators on MSF activity:

Metal ions catalysed conversion reaction of DQI to DHI (Ashok *et al.*, 1992). We therefore examined the effect of chelators on MSF activity. The MSF activity was decreased by the iron chelators 2,2'-dipyridyl and 1,10-phenanthroline (Fig. 3). The finding was consistent with another report on the dopachrome tautomerase (Ashok *et al.*, 1992). Our results suggested that MSF functions as an iron-binding and the iron was important for the function of MSF. It shed light on direction for future research into the regulation of melanogenesis. MSF actually contains iron remains to be demonstrated. Investigation along these lines is now underway in our laboratories.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by KAKENHI (21780049) and Kyushu University Interdisciplinary Programs in Education and Projects in Research Development

REFERENCES

- ANDERSON K., SUN S. C., BOMAN H. G. & STEINER H. (1989) Purification of the prophenoloxidase from *Hyalophora cecropia* and four proteins involved in its activation. *Insect Biochem.* 19, 629-637.
- AROCA P., GARCIA-BORRON J. C., SOLANO F. & LOZANO J. A. (1990) Regulation of mammalian melanogenesis. I: Partial purification and characterization of a dopachrome converting factor: dopachrome tautomerase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1035, 266-275.
- ASO Y., YAMAMOTO K., YOSHINAGA T., YAMAMOTO H., YAMAGAMI T. (1995) Partial purification and characterization of DOPA quinine imine conversion factor from larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 277-281.
- BARBER J. L., TOWNSEND D., OLDS D. & KING R. A. (1984) Dopachrome oxidoreductase: a new enzyme in the pigment pathway. *J. Invest. Dermatol.* 83, 145 - 149.
- CABANES J., GARCIA-CANOVAS F., LOZANO J. A. & GARCIA-CARMONA F. (1987) Kinetic study of the melanization pathway between L-tyrosine and dopachrome. *Biochim. Biophys. Acta.* 923, 187-195.
- CHAKRABORTY A. K., ORLOW S. J. & PAWELEK J. M. (1992) Evidence that dopachrome tautomerase is a ferrous iron-binding glycoprotein. *FEBS Lett.* 302, 126-128.
- HIRUMA K., RIDDIFORD L.M. (1988) Granular phenoloxidase involved in cuticular melanization in the tobacco hornworm: regulation of its synthesis in the epidermis by juvenile hormone. *Dev Biol.* 130(1), 87-97.
- KORNER A. & PAWELEK J. M. (1980) Dopachrome conversion: a possible control point in melanin biosynthesis. *J. Invest. Dermatol.* 75, 192-195.
- LI J., ZHAO X. & CHRISTENSEN B. M. (1994) Dopachrome conversion activity in *Aedes aegypti*: significance during melanotic encapsulation of parasites and cuticular tanning. *Insect Biochem Mol Biol.* 24(10), 1043-1049.
- LI J. & NAPPI A. J. (1991) Electrochemical identification of dopachrome isomerase in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 180, 724-729.

- MASON H. S. (1948) the chemistry of melanin; mechanism of the oxidation of dihydrosyphenylalanine by tyrosinase. *J. Biol. Chem.* 172, 83-99.
- PALUMBO A., D'ISCHA M., MISURACA G., PROTA J. & SCHULTZ T. M. (1988) Structural modifications in biosynthetic melanins induced by metal ions. *Biochim. Biophys. Acta.* 964, 193-199.
- PAWELEK J. M. (1990) Dopachrome conversion factor functions as an isomerase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 166, 1328-1333.
- SUGUMARAN M., SEMENSI V. (1991) Quinone methide as a new intermediate in eumalin biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 266, 6073-6078.
- YAMAMOTO K., SUGIOKA M., FUJII H., ASO Y. & ISHIGURO M. (1999) Isolation and characterization of prophenoloxidase isoforms from the silkworm, *Bombyx mori* (a80 strain). *J. Seric. Sci. Jpn.* 68, 65-72.

NOUVEL ASPECT DE LA MELANISATION CHEZ LE PAPILLON, *BOMBYX MORI*

KOHI YAMAMOTO*, YOICHI ASO & HIROSHI FUJII

Faculty of Agriculture, Kyushu University Graduate School, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku,
Fukuoka 812-8581, Japon.

*Nous avons révélé auparavant que les dopa quinine imine sont des substrats favorables au facteur de synthèse de la mélanine (MSF) chez le papillon, *Bombyx mori* et on a détecté que le 5,6-dihydroxyindole est le produit catalysé par le MSF. Dans cette étude, nous avons d'avantage caractérisé le MSF du papillon. Nous avons étudié une série d'analogues de substrats et de composés associés comme des substrats et des inhibiteurs possibles de la catalyse. Les dérivés de l'indole y compris l'acide 5-hydroxyindole-2-carboxylique et l'acide indole-2-carboxylique sont capables d'inhiber l'enzyme. Les indoles avec un groupe carboxylique en position 3 sont donc des inhibiteurs puissants de l'enzyme. Par ailleurs, nous avons montré que le MSF est un enzyme métallique. Nous apportons de nouvelles informations sur la synthèse de la mélanine chez les lépidoptères.*

INTRODUCTION

Chez les insectes, on observe la mélanisation dans un ensemble de phénomènes : la pigmentation, la cicatrisation des blessures et l'encapsulation mélanotique (Hirima et Riddord, 1988 ; Li et coll., 1994). L'éclaircissement du mécanisme de la mélanisation permettrait une meilleure compréhension des événements cruciaux chez les insectes (Hirima et Riddiford, 1988). On a examiné le processus biosynthétique de la mélanine et il s'avère qu'il y a trois étapes principales (Mason, 1948). La première étape du processus comprend l'hydroxylation de la tyrosine en alanine 3-(3,4 dihydroxyphényl) (DOPA) et en deuxième lieu la conversion de la DOPA en DOPA quinine imine (DQI). La tyrosinase (CE 1.14.18.1) et la phénol oxydase (CE 1.10.3.1) sont les enzymes clés pendant la première et la deuxième étape (Cabanès et coll., 1987). La troisième étape comprend la conversion de la DQI en 5,6-dihydroxyindole (DHI), mais les informations sur les réactions impliquées dans cette étape sont limitées. On a pensé que l'oxydation et la polymérisation de la DQI ont lieu spontanément par une série d'intermédiaires très réactifs, qui entraînent la production du polymère de la mélanine (Mason, 1948). Récemment, on a détecté certains facteurs régulateurs, catalysant une réaction en trois étapes chez *Hyalophora cecropia*, *Manduca sexta*, *Drosophyla melanogaster* et *Aedes aegypti* (Anderson et coll., 1989 ; Sugumaran et Semensi, 1991 ; Li et Nappi, 1991). Chez le papillon, *B. mori*, nous avons aussi identifié un facteur similaire, le facteur de synthèse de la mélanine (MSF) (Aso et coll., 1995). Dans cet article, nous examinons les propriétés du MSF chez *B. mori*. On a examiné le site actif de l'enzyme et les besoins structurels du MSF du ver à soie *B. mori* par rapport au produit de la catalyse MSF.

* Auteur auquel adresser la correspondance : Kohji Yamamoto, Faculty of Agriculture, Kyushu University Graduate School, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japon. Fax : + 81 -92-624-1011. Email yamamok@agr.kyushu-u.ac.jp

MATERIELS ET METHODES

Insectes et hémolymphé :

On élève les larves du 5^{ème} âge du papillon *B. mori* sur des feuilles de mûrier à l'Institut des Ressources Génétiques de l'Université de Kyushu (Fukuoka, Japon). On recueille l'hémolymphé dans de l'azote liquide, on la lyophilise et on la conserve à - 80° C jusqu'à ce qu'on en ait besoin.

Analyse du MSF :

On réalise toutes les opérations à 30° C. Dans une cuvette en quartz, on mélange 0,4 ml de 10 mM DOPA avec 0,1 ml de 27 mM de ferricyanure de potassium et on l'incube pendant 2,5 min. Après, on ajoute 1,5 ml d'acétate de sodium 0,1 M (pH 5) au mélange et on l'incube pendant 10s supplémentaires, la réaction commence avec l'ajout de 0,1 ml de solution MSF. On surveille l'absorption à 475 nm avec un spectrophotomètre Hitachi U-3210 (Tokyo, Japon). On définit une unité comme la quantité de MSF capable de diminuer l'absorption de 0,01 par min. dans ces conditions.

Préparation du MSF :

On prépare le MSF selon la description d'un rapport antérieur (Yamamoto et coll., 1999) sauf si on indique le contraire. On mesure les protéines avec un kit d'analyse des protéines Bio-Rad (Bio-Rad Lab) en utilisant de l'albumine de sérum bovin comme protéine standard.

Analyse HPLC :

On procède à l'analyse de l'inhibition avec des analogues indole sur une colonne Cosmosil 5C18 avec un système Waters 625 LC (Tokyo, Japon). On prépare le mélange de réaction dans les mêmes conditions que celles décrites plus haut, puis on prend 0,1 ml du mélange et on l'ajoute à 0,2 ml de la phase mobile : 0,1 M phosphate de potassium (pH 2,1) : méthanol = 85 : 15 (v / v). On injecte un échantillon (0,1 ml) sur la colonne Cosmosil et on surveille l'éluat à 280nm avec un détecteur de dosage à photodiode Waters 991 J. On mesure la quantité relative du composé séparé en mesurant la surface du pic correspondant.

RESULTATS ET DISCUSSION

Effet des analogues indole sur l'activité MSF :

Dans le processus de synthèse de la mélanine, on a étudié la réaction pendant la troisième étape. Par exemple, on a signalé que l'un des facteurs régulateurs catalyse la décarboxylation directe de la DQI pour donner la DHI (Anderson et coll., 1989 ; Sugumaran et Semensi, 1991 ; Li et Nappi, 1991). Un autre groupe a montré que cette réaction est une tautomérisation (Aroca et coll., 1990). Pour estimer les caractères structurels pour la reconnaissance des substrats par le site actif du MSF chez le papillon du ver à soie, nous avons construit une nouvelle méthode d'analyse (Aso et coll., 1995). Puisque la plupart des intermédiaires qui se forment pendant la synthèse de la mélanine sont réactifs et instables, il est difficile de détecter ces intermédiaires. En utilisant cette analyse, nous avons constaté que le MSF est capable de dégrader la DQI (Aso et coll., 1995).

Nous avons analysé le MSF avec des substrats y compris avec des analogues indole (Fig. 1 et Tableau I). Le Tableau I montre que l'acide 5-hydroxyindole-2-carboxylique (HIC) est le meilleur inhibiteur de l'enzyme, puisque le taux d'inhibition est de 27 %. De plus, l'activité du MSF est inhibée en la présence de l'acide indole-2-carboxylique (22 %). On a décrit le L-tryptophane comme un inhibiteur concurrent de la tautomérase dopachrome (Aroca et coll., 1990). Cependant, le L-tryptophane (5mM) n'inhibe pas du tout l'activité enzymatique (Tableau I). L'HIC et l'acide indole-2-carboxylique sont des inhibiteurs de l'enzyme, ce qui suggère que le groupe carboxylique en position 2 du substrat est nécessaire. La Fig. 2a montre le pourcentage d'activité MSF résiduelle par rapport à la concentration inhibitrice de l'HIC. Nous avons constaté que la structure compétitive

est révélée dans la Fig. 2. La présence de groupes carboxyliques augmente l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme. Ce groupe carboxyle pourrait entrer en interaction de manière compétitive pour le MSF avec le groupe carboxylique-2 du substrat authentique. Puisque le 5-hydroxyindole et l'HIC inhibent l'activité MSF, le groupe hydroxyle en position 5 de l'anneau indole pourrait aussi être important. Le groupe hydroxyle pourrait entrer en interaction avec un site différent sur le site actif de l'enzyme.

Effet de l'HIC sur l'activité MSF :

Nous avons déjà identifié le produit de la réaction catalysée par le MSF et on a analysé le mélange contenant le MSF et la DQI par chromatographie liquide sous haute pression en phase inversée (Aso et coll., 1995). Pour confirmer que l'HIC est un inhibiteur du MSF, on mesure le changement dans la zone correspondant au DHI en la présence de l'HIC. Les résultats indiquent que l'HIC pourrait entrer en interaction avec le site actif du MSF. Les expériences ci-dessus suggèrent que la reconnaissance de l'HIC par le MSF a besoin de la présence du groupe carboxyle en position 3 et du groupe hydroxyle situé en position 5 et 6 sur l'anneau indole. L'interaction entre l'enzyme et le groupe carboxyle serait électrostatique et donc une charge électrique est nécessaire pour l'interaction.

Effet des chélateurs sur l'activité MSF :

Les ions de métal catalysent la réaction de conversion de la DQI en DHI (Ashok et coll., 1992). Nous avons donc examiné l'effet des chélateurs sur l'activité MSF. L'activité MSF baisse avec les chélateurs fer 2,2'-dipyridyl et 1,10-phénanthroline (Fig. 3). Ce résultat confirme un autre rapport sur la tautomérase du dopachrome (Ashok et coll., 1992). Nos résultats suggèrent que le MSF fonctionne comme un fixateur du fer et le fer est important pour la fonction du MSF. Ceci apporte des informations sur l'orientation de futures recherches sur la régulation de la mélanogenèse. Il reste à prouver que le MSF contient réellement du fer. Des recherches dans cette direction sont en cours dans nos laboratoires.

RESOURCE PRODUCTIVITY IN LARGE SCALE SERICULTURAL FARMING

P. KUMARESAN¹, R. G. GEETHA DEVI², S. RAJADURAI³, N. G. SELVARAJU⁴ &
C. K. KAMBLE⁵

- 1 - Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Mysore, Karnataka, India.
- 2 - Scientist-E (Retired), Central Silk Board, Mysore, Karnataka, India.
- 3 - Research Extension Centre, Central Silk Board, Madiwala, Kolar District, Karnataka, India.
- 4 - Research Extension Centre, Central Silk Board, Udumalpet, Coimbatore District, Tamil Nadu, India.
- 5 - Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur, Tamil Nadu, India.

The objective of this paper is to analyze the differences in input-output relationship, productivity of resources and resource use efficiency of mulberry cocoon production between large-scale and small-scale silkworm rearers. The analysis on allocative efficiency of resource use indicated that Dfls (disease free layings) and disinfectants were not used with full efficiency in cocoon production by the large-scale silkworm rearers, which implies that there is a lot of scope for increasing the use of these inputs upto the optimal level in order to achieve their efficient use.

Keywords: Allocative efficiency, cocoon production function, Marginal Value of Product (MVP), resource use efficiency.

INTRODUCTION

Sericulture is an agro-based labour intensive activity, which plays a significant role in the development of rural economy in India. Silk is often described as a fibre produced by the poor for the rich to wear and it is true that the farmers who produce silk have usually been poor farmers (Ronald Currie, 2001). Silkworm rearing is ideally suited for small farmers, as working with silkworms is labour intensive by nature and requires strict discipline, learned by tradition through generations. In India, sericultural operations are mostly confined to small to medium scale with the mulberry holdings ranging from 0.2 Ha to 0.8 Ha.

However, with the advent of new technologies, the labour dependence in sericultural activities has significantly reduced and the crop yields have improved in the recent years. As a result, many progressive and educated farmers are taking up sericulture in comparatively large scale (that is more than 2 Ha).

The successful farming requires effective management of the resources for maximizing the profitability in sericultural operations. In this context, the question arises is whether the large-scale farmers are able to rationally use their resources in silkworm rearing operations? Is there any difference in resource use pattern and productivity of resources between large and small-scale silkworm rearers? The present study attempts to analyze the input-output relationship, productivity of resources and resource use efficiency of cocoon production between large and small farmers.

METHODOLOGY

Sampling plan and data collection:

The study was carried out in Tamil Nadu, which is the fourth largest silk producing state in India. In Tamil Nadu, Coimbatore district was purposively selected for the study, as it is a traditional and major cocoon-producing district with a large number of large-scale farmers practicing sericulture. In the present study, the mulberry farm size of more than or equal to 2.00 ha was considered as large-scale sericultural farm. The data were collected from randomly selected 60 large-scale silkworm rearers and 60 small or medium scale rearers (the farmers with less than 2.00 ha of mulberry holdings) in the study area. The small/medium scale rearers are hereafter referred as small-scale rearers in the present paper. Thus, altogether, the total sample size was 120 sericultural farmers.

As the number of large-scale sericulture farms is relatively less and highly scattered, the large-scale rearers sericulturists were selected by random sampling method using the list of farmers received from Research Extension Centre of Central Silk Board located at Udumalpet. The small scale located adjacent to the sample large-scale farmers were selected for the data collection in order to minimize the variations between the two categories of the farmers in terms of rearing practices and agronomical parameters. A pre-tested structured interview schedule was used to collect the required information. The data collected from the sericultural farmers for the study pertain to the year 2005-06.

The collected information were compiled, tabulated and subjected to tabular and percentage analyses. Productivity and economics were worked out for both the categories of the farmers.

Production function analysis:

Production function analysis was used to find out input-output relationship and resource use efficiency in cocoon production for large and small-scale farmers. The cocoon production function refers to the technical relationship between inputs like disease free layings (dfls), labour, disinfectants etc used and the output of cocoons. It provides information on expected variations in the quantity of cocoon, when certain quantities of inputs are changed in the production. Since the silkworm rearers in the study area used different types of disinfectants, fertilizers etc, it was not possible to transform such inputs into standard comparable inputs. However, the price of each input indirectly reflects the quality of the inputs used for the production. Hence, the inputs were expressed in value terms instead of physical terms for fitting the production function for the present study. Evidences from many previous studies indicated that Cobb-Douglas function is more appropriate to explain production relationships in sericulture (Neelakanta Sastry, 1982; Marihonnaiah, 1986; Sumanta Behera, 2004; Kumaresan *et al.*, 2004).

The Cobb-Douglas production function employed in the study can be expressed as:

$$Y = aX_1^{b_1} X_2^{b_2} \dots X_5^{b_5} \mu \dots \dots \dots (1)$$

Where

Y = Value of cocoon produced (Rs./acre/year)

X₁ = Cost of farmyard manure (Rs./acre/year)

X₂ = Cost of fertilizers (Rs./acre/year)

X₃ = Cost of labour (Rs./acre/year)

X₄ = Cost of disinfectants (Rs./acre/year)

X₅ = Cost of dfls (Rs./acre/year)

a = Intercept

b_{ij} = Regression coefficient of the *i*th variable (*i* = 1 to 5)

μ = Random term independently distributed with zero mean and finite variance

The parameters of the function 'a' and b_i s were estimated separately for both conventional silkworm rearers and large-scale silkworm rearers using ordinary least square (OLS) technique by converting the functions into log-linear forms.

Estimation of Production Efficiency:

The modeling and estimation of production efficiency of a farm relative to other farms or the best practice in an industry has become an important area of economic study. Productivity is generally measured in terms of the efficiency with which factor inputs, such as land, labour, fertilizers, tools, seeds, equipments etc., are converted to output within the production process. Productivity is measured in terms of two measures namely, partial productivity and total factor productivity (TFP). Partial productivity is measured as the ratio of output to a single input. The ratio of output to all inputs combined is the total factor productivity.

Generally, two approaches are used in measuring TFP. These are the growth accounting or index number approach and the econometric or parametric method. The econometric method is based on an econometric estimation of the production function or the underlying cost or profit function. In this study, the production function is used to measure the productivity of inputs in mulberry cocoon production.

From the production function, the conventional neoclassical test of economic efficiency was derived. Marginal value of a particular input is calculated by taking the first order partial derivative of the output (Y) function with respect to its corresponding input (X_i). In case of Cobb-Douglas production function, since regression coefficients of inputs give their respective production elasticities, Marginal Physical Product (MPP) of all inputs can be calculated by the formula as given below:

$$MPP_{xi} = \left(\hat{b}_i \frac{\bar{Y}}{\bar{X}} \right)$$

Where

$\bar{Y}$ = Geometric mean of cocoon production

$\bar{X}$ = Geometric mean of i th input

$\hat{b}_i$ = Regression coefficient of i th input

$i = 1, 2, \dots, 5$

Resource use efficiency comprises the distribution of a given amount of scarce factor among a set of alternatives in the production so as to maximize the relevant end of the economic unit in question. In order to study the resource use efficiency of an input, Marginal Value of Product (MVP) of each input was found and compared with its acquisition cost or unit price of concerned input.

$$MVP_{xi} = P_{xi} \text{ (Acquisition cost per unit)}$$

The resource is said to be allocated efficiently if the MVP of resource is equal to the acquisition cost of the resource. The input is said to be over-utilized if $(MVP_{xi} - P_{xi}) < 0$ and hence, to increase profit, it is recommended to decrease the use of that input. But, if $(MVP_{xi} - P_{xi}) > 0$, it is advised to increase the use of the resource to get higher economic returns as in this case the input is said to be under-utilized.

Using t-test, the formula for which is given below, the significant difference between MVP and unit price of input was tested.

$$t = \frac{(MVP_{xi} - P_{xi})}{SE(MVP_{xi})}$$

$$SE(MVP_{xi}) = \left(SE(bi) \frac{\bar{Y}}{\bar{X}} \right)$$

Where,

MVP_{xi} = MVP of the resource X_i

P_{xi} = Price per unit of the resource X_i

$SE(bi)$ = Standard error of regression coefficient associated with the resource X_i

The absolute value of calculated t was compared with table value of ' t ' in case of all inputs at $(n-k-1)$ degrees of freedom where ' n ' is the total number of observations and ' k ' is the total number of explanatory variables. If calculated ' t ' is less than table value of ' t ', it is concluded that the difference between MVP of a resource and its acquisition unit price was statistically insignificant indicating the optimal use of the resource and vice versa.

RESULTS AND DISCUSSION

Input-output relationship:

The cocoon production functions for the large-scale as well as small scale farmers were fitted separately and the estimates of the functions are presented in Table 1. The coefficient of multiple determination (R^2) was worked out to 0.768 and 0.824 for large-scale rearers and small-scale rearers, respectively implying that 76.80% and 82.40% of variation in the income from cocoon production could be explained by the variables included in the respective function. This indicated that the selected form of the production function was the best fit.

The values of the regression coefficient (elasticity of production) were less than one for all the inputs considered in the production function fitted for large-scale farmers. This shows that each input included in the production function followed diminishing marginal productivity. The coefficients of dfls (0.6657) and disinfectants (0.4833) were positive and statistically significant for large-scale farmers. This implies that one per cent increase in these resources over the geometric mean levels would contribute respective percentage increase in income from cocoon production. Hence, it may be inferred that dfls and disinfectants were the important variables, which significantly influenced the cocoon production with the large-scale farmers. The production coefficient of fertilizer (0.02678), human labour (0.0406) and farmyard manure (0.03393) had positive sign as expected *a priori* but statistically not significant.

In the production function fitted for small-scale rearers, the production elasticity of farmyard manure (0.04379), disinfectants (0.15929) and dfls (1.2344) were turned out to be the most important variables governing the cocoon production, as these regression coefficients were positive and statistically significant. The output elasticity of fertilizer was positive but statistically not significant. The regression coefficient of labour was inversely related to cocoon production with the small-scale rearers against the expectation, but the coefficient was statistically not significant. This might be due to the overuse of labour in the silkworm rearing by the small-scale rearers due to more availability of family labour with them.

Marihonnaiah (1986), Kulkarni (1992) and Sumanta Behera (2004) identified that dfls, human labour and disinfectants had positive and significant association with cocoon production. Jayaram (1991) reported significant and positive association of farmyard manure and fertilizer with the irrigated mulberry leaf yield.

Table 1. Production function estimates for cocoon production.**Tableau 1. Estimations de la fonction de production pour la production de cocons.**

Sl. No.	Variables	Regression coefficient	
		Large-scale rearers	Small-scale rearers
		<i>Coefficient de régression</i>	
<i>No. de série</i>		<i>Sériciculteurs à grande échelle (N=60)</i>	<i>Petits sériciculteurs (N=60)</i>
1	Constant	1.493	1.7502
2	Farmyard manure / <i>Fumier</i>	0.03393 (0.05965)	0.04379* (0.0151)
3	Fertilizers / <i>Engrais</i>	0.02678 (0.01649)	0.0081 (0.01097)
4	Disinfectants / <i>Désinfectants</i>	0.4833* (0.1377)	0.15929* (0.06109)
5	Labour / <i>Main d'oeuvre</i>	0.0406 (0.1171)	-0.1487 (0.06507)
6	Dfls / <i>Pontes saines</i>	0.6657** (0.1284)	1.2344** (0.1857)
	R ²	0.768	0.824

Note: Figures in parentheses are standard errors of regression coefficients. / *Les chiffres entre parenthèses sont les écarts types des coefficients de régression.*

* - Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*,

** - Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*.

Resource productivity and resource use efficiency:

The ratio of MVP and factor prices provides a measure of resource allocative efficiency. If the ratio is equal to one, the resource is said to be efficiently allocated. A ratio of greater than one indicates the possibility of increasing the resource under consideration both to increase the productivity and profitability. A ratio of less than one indicates that the resource could be reduced without any detrimental effect on production and profitability.

The MVP of inputs used for cocoon production with large-scale and small-scale silkworm rearers are presented in Table II. It may be inferred from the table that the MVPs of two inputs namely, disinfectants and Dfls were positive and significantly more than unity, signifying sub-optimal use these inputs. Kumaresan *et al.*, (2004) reported under-utilization of disinfectants by the silkworm rearers for cocoon production under rainfed conditions. The present analysis indicates that disinfectants and Dfls could be used more by large-scale farmers to improve their returns in cocoon production. The MVPs of labour, fertilizers and farmyard manure turned out to be statistically not different from unity for the large-scale silkworm rearers implying optimal use of inputs.

Table II. Marginal Value of Products (MVP) of inputs for large-scale and small-scale silkworm rearers.**Tableau II. Valeur marginale des produits (MVP) pour les intrants chez les sériciculteurs à grande et à petite échelle.**

Sl. No.	Inputs	Large-scale rearers	Small-scale rearers
No. de série	Intrants	Sériciculteurs à grande échelle	Petits sériciculteurs
1	Farmyard manure / <i>Fumier</i>	0.1617 (0.2843)	0.3074* (0.1060)
2	Fertilizers / <i>Engrais</i>	0.1545 (0.0952)	0.0817 (0.1107)
3	Disinfectants / <i>Désinfectants</i>	3.1872* (0.9081)	1.3139* (0.5864)
4	Labour / <i>Main d'oeuvre</i>	0.0817 (0.2358)	— 0.2708 (0.2342)
5	Dfls / <i>Pontes saines</i>	5.4516** (1.0515)	12.6157** (1.8979)

Note: Figures in parentheses are standard errors of Marginal Value of Products of inputs / *Les chiffres entre parenthèses sont les écarts types de la valeur marginale des produits pour les intrants.*

* - Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %.*

** - Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %.*

In case of small farmers, the ratio between marginal value of product and the acquisition cost per unit was more than unity for Dfls and disinfectants. This indicates that Dfls and disinfectants were used at sub-optimal levels. Hence, there is a possibility of increasing the use of these inputs to the optimum level, where the efficiency of the input use is maximum. The allocation efficiency was less than the unity for farmyard manure, which implies the over-utilization of farmyard manure. Inefficient allocation of farmyard manure may be due to excess or improper use. The MVPs of fertilizers and labour were statistically non-significant signifying for the small-scale silkworm rearers signifying optimal use of inputs.

SUMMARY AND CONCLUSION

The objective of this paper is to analyze the input-output relationship, productivity of resources and resource use efficiency of cocoon production between large-scale and small-scale silkworm rearers. The data for the study were collected from 60 large-scale and 60 small-scale silkworm rearers. The cocoon production function analysis indicated that the Dfls and disinfectants have positively influenced the cocoon production with large-scale silkworm rearers, whereas Dfls, disinfectants and farmyard manure were the important variables governing cocoon production with small-scale silkworm rearers. As regards allocative efficiency of resource use, there was not much difference in resource use between two categories of farms. Dfls and disinfectants were not being used with full efficiency with both the category of farms. Hence, there is a lot of scope for increasing the use of these inputs upto the optimal level in order to achieve their efficient use.

REFERENCES

- JAYARAM, H. (1991), Technical efficiency in mulberry sericulture: An application of frontier production function, Dissertation (unpublished) submitted to CSRTI, Mysore, India.
- KUMARESAN, P., SRINIVASA, G. & VIJAYA PRAKASH, N.B., (2004), "Productivity and profitability in rainfed sericulture – A study in the district of Chamarajnagar in Karnataka" *Agricultural Economics Review*, 17(2): 75-82.
- MARIHONNAIAH, Y. (1986), Studies resource productivity in cocoon production in Tumkur district of Karnataka, M.Sc. (Agriculture) Thesis (unpublished) submitted to University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.
- NEELAKANTASASTRY, T.V. (1982), Cost structure of sericulture industry in Chittoor district of Andhra Pradesh, M.Sc. (Agriculture) Thesis (unpublished) submitted to Andhra Pradesh Agricultural University, Hyderabad, India.
- RONALD CURRIE (2001), Silk, in Robert R Franck (Ed.), *Silk, Mohair, Cashmere, and Other Luxury Fibres*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England.
- SUMANTA BEHERA (2004), Impact of technological change and economics of cocoon production in Mandya district of Karnataka, M.Sc. (Seri. Tech) dissertation (unpublished) submitted to University of Mysore, India
- KULKARNI VILAS S. (1993), Yield gap analysis of bivoltine (NB4D2) cocoon production in Mandya district, Dissertation (unpublished) submitted to CSRTI, Mysore, India.

PRODUCTIVITE DES RESSOURCES DANS LA SERICICULTURE A GRANDE ECHELLE

P. KUMARESAN¹, R. G. GEETHA DEVI², S. RAJADURAI³, N. G. SELVARAJU⁴ &
C. K. KAMBLE⁵

1. Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Mysore, Karnataka, Inde.
2. Scientist-E, Central Silk Board, Mysore, Karnataka, Inde
3. Research Extension Centre, Central Silk Board, Madiwala, Kolar District, Karnataka, Inde.
4. Research Extension Centre, Central Silk Board, Udumalpet, Coimbatore District, Tamil Nadu, Inde.
5. Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur, Tamil Nadu, Inde.

Le but de cet article est d'analyser les différences concernant la relation facteur de production / production, la productivité des ressources et l'efficacité d'utilisation des ressources dans la production de cocons mûrier entre les éleveurs de ver à soie à grande échelle et à petite échelle. L'analyse sur l'efficacité d'affectation des ressources utilisées montre que les pontes saines et les désinfectants ne sont pas utilisés complètement efficacement par les éleveurs de ver à soie à grande échelle dans la production de cocons, ce qui signifie qu'il existe des possibilités importantes pour augmenter l'utilisation de ces intrants jusqu'au niveau optimal pour atteindre une utilisation efficace.

INTRODUCTION

La sériciculture est une activité agricole employant beaucoup de main d'œuvre, qui joue un rôle important dans le développement de l'économie rurale en Inde. On décrit souvent la soie comme une fibre produite par les pauvres pour que les riches la portent et il est vrai que les fermiers qui la produisent sont habituellement des fermiers pauvres (Ronald Currie, 2001). L'élevage du ver à soie est idéalement adapté aux petits fermiers, car le travail avec les vers à soie utilise par nature beaucoup de main d'œuvre, nécessite une discipline stricte et s'apprend traditionnellement de génération en génération. En Inde, les activités séricicoles se pratiquent principalement à petite et à moyenne échelle, avec des plantations de mûrier comprises entre 0,2 à 0,8 ha.

Cependant, avec l'arrivée des nouvelles technologies, la dépendance vis-à-vis de la main d'œuvre dans les activités séricicoles a beaucoup diminué et récemment les rendements des cultures se sont améliorés. Par conséquent, beaucoup de fermiers modernes et cultivés se lancent dans la sériciculture à plus grande échelle (c'est-à-dire plus de 2 ha).

Le succès de l'agriculture nécessite une gestion efficace des ressources pour maximiser la rentabilité des activités séricicoles. Dans ce contexte, il reste à savoir si les fermiers à grande échelle sont capables d'utiliser leurs ressources de manière rationnelle dans les activités d'élevage du ver à soie. Y a-t-il une différence dans la structure d'utilisation des ressources et dans la productivité des ressources entre les éleveurs de ver à soie à grande et à petite échelle ? Cette étude essaie d'analyser la relation facteur de production – production, la productivité des ressources et l'efficacité d'utilisation des ressources dans la production de cocons, entre les fermiers à grande et à petite échelle.

METHODOLOGIE

Plan d'échantillonnage et recueil des données :

L'étude est réalisée dans le Tamil Nadu, qui est le quatrième état producteur de soie en Inde. Dans le Tamil Nadu, on choisit à dessein la zone de Coimbatore pour l'étude, car elle est une zone traditionnelle et principale de production de cocons, avec un grand nombre de fermiers qui pratiquent la sériciculture à grande échelle. Dans cette étude, on considère une exploitation de mûriers égale ou supérieure à 2 ha comme une exploitation séricicole de grande taille. On recueille les données chez 60 éleveurs de ver à soie à grande échelle et chez 60 éleveurs de ver à soie à petite ou à moyenne échelle (les fermiers dont l'exploitation de mûriers fait moins de 2 ha), sélectionnés de manière aléatoire dans la zone d'étude. Ensuite, dans cet article on se réfère aux éleveurs à petite / moyenne échelle comme à des éleveurs à petite échelle. En tout la taille totale de l'échantillon est de 120 sériciculteurs.

Puisque le nombre d'exploitations séricicoles à grande échelle est relativement moins important et très dispersé, on sélectionne les sériciculteurs à grande échelle par une méthode d'échantillonnage aléatoire, en utilisant la liste d'agriculteurs reçue du Centre de Vulgarisation de la Recherche, du Central Silk Board, situé à Udumalpet. On sélectionne les agriculteurs à petite échelle qui s'ajustent avec l'échantillon de fermiers à grande échelle pour le recueil des données, afin de minimiser les variations, en termes de pratiques d'élevage et de pratiques agronomiques entre les deux catégories de fermiers. On utilise un programme d'interview structuré préliminaire pour recueillir les informations nécessaires. Les données recueillies pour l'étude auprès des sériciculteurs concernent l'année 2005-06.

On rassemble, on classe et on soumet les informations recueillies à des analyses tabulaires et de pourcentage. On calcule la productivité et la rentabilité pour les deux catégories d'agriculteurs.

Analyse de la fonction de production :

On utilise l'analyse de la fonction de la production pour trouver la relation facteur de production – production et l'efficacité d'utilisation des ressources dans la production de cocons pour les sériciculteurs à grande et à petite échelle. La fonction de production des cocons se réfère à la relation technique entre les intrants comme les pontes saines, la main d'œuvre, les désinfectants utilisés etc., et la production de cocons. Elle apporte des informations sur les variations prévues de la quantité de cocons, quand certaines quantités des intrants changent dans la production. Puisque les éleveurs de vers à soie dans la zone d'étude utilisent différents types de désinfectants et d'engrais, etc., il n'est pas possible de transformer ces intrants en intrants standards comparables. Cependant, le prix de chacun des intrants reflète indirectement la qualité des intrants utilisés pour la production. On exprime donc les intrants en termes de valeur plutôt qu'en termes physiques pour adapter la fonction de production à cette étude. D'après de nombreuses études précédentes, il s'avère que la fonction de Cobb-Douglas est la plus appropriée pour expliquer les relations de production en sériciculture (Neelakanta Sastry, 1982) ; Marihonnaiah, 1986 ; Sumanta Behera, 2004 ; Kumaresan et coll. ; 2004).

On peut exprimer la fonction de production Cobb-Douglas employée dans cette étude comme suit :

$$Y = aX_1^{b_1} X_2^{b_2} \dots X_5^{b_5} \mu \dots \dots \dots (1)$$

Où

Y = Valeur des cocons produits (Rs / demi-hectare / an)

X₁ = Coût du fumier (Rs / demi-hectare / an)

X₂ = Coût des engrais (Rs / demi-hectare / an)

X₃ = Coût de la main d'œuvre (Rs / demi-hectare / an)

X₄ = Coût des désinfectants (Rs / demi-hectare / an)

X₅ = Coût des pontes saines (Rs / demi-hectare / an)

a = Ordonnée à l'origine

b_i = Coefficient de régression de la i ème variable ($i = 1$ à 5)

μ = Terme aléatoire distribué indépendamment avec une moyenne de zéro et une variance finie

On estime séparément les paramètres de la fonction « a » et b_i à la fois pour les sericiculteurs traditionnels et à grande échelle en utilisant la technique des moindres carrés ordinaires par la transformation des fonctions en **présentation** semi-logarithmique linéaire.

Estimation de l'efficacité de production :

La modélisation et l'estimation de l'efficacité de production d'une exploitation agricole par rapport aux autres exploitations agricoles ou aux pratiques les meilleures dans une industrie est devenue un domaine important d'étude en économie. On mesure en général la productivité en termes d'efficacité avec laquelle les **facteurs** de production tels que la terre, la main d'œuvre, les engrais, les outils, les graines, les équipements, etc., sont convertis en production dans le processus de production. On mesure la productivité par deux éléments à savoir, la productivité partielle et la productivité totale des facteurs (TFP). On calcule la productivité partielle comme le rapport entre la production et un facteur de production individuel. Le ratio entre la production et tous les intrants réunis est la productivité totale des facteurs.

En général, on utilise deux approches pour mesurer le TFP. Ce sont l'approche de comptabilité de la croissance ou du nombre d'indices et la méthode économétrique ou paramétrique. La méthode économétrique est basée sur l'estimation économétrique de la fonction de production ou du coût sous-jacent ou de la fonction de profit. Dans cette étude, on utilise la fonction de production pour mesurer la productivité des intrants dans la production de cocons du mûrier.

A partir de la fonction de production, on a obtenu le test néoclassique conventionnel de l'efficacité économique. On calcule la valeur marginale d'un facteur de production particulier en prenant la dérivée partielle de premier ordre de la fonction de production (Y) par rapport à son facteur de production correspondant (X_i). Dans le cas de la fonction de production de Cobb-Douglas, puisque les coefficients de régression des intrants donnent leurs élasticités de production respectives, on peut calculer le Produit Physique Marginal (MPP) de tous les intrants par la formule suivante :

$$MPP_{x_i} = \left(\hat{b}_i \frac{\bar{Y}}{\bar{X}} \right)$$

Où

$\bar{Y}$ = Moyenne géométrique de la production de cocons

$\bar{X}$ = Moyenne géométrique du i ème facteur de production

$\hat{b}$ = Coefficient de régression du i ème facteur de production

$i = 1, 2, \dots, 5$.

L'efficacité d'utilisation des ressources comprend la distribution d'une quantité donnée d'un facteur peu abondant, parmi un ensemble d'alternatives dans la production, de manière à maximiser la partie pertinente de l'unité économique en question. Pour étudier l'efficacité d'utilisation des ressources d'un facteur de production, on détermine la Valeur Marginale du Produit (MVP) de chaque facteur de production et on le compare avec le coût d'acquisition ou le prix unitaire du facteur de production en question.

$$MVP_{x_i} = P_{x_i} \text{ (coût d'acquisition par unité)}$$

On considère que la ressource est affectée efficacement si la MVP de la ressource est égale au coût d'acquisition de la ressource. On considère que le facteur de production est sur-utilisé si $(MVP_{xi} - P_{xi}) < 0$ et donc pour augmenter les profits, on recommande de diminuer l'utilisation de ce facteur de production. Mais si $(MVP_{xi} - P_{xi}) > 0$, on conseille d'augmenter l'utilisation de la ressource pour obtenir des profits économiques supérieurs, comme dans ce cas le facteur de production est dit être sous-utilisé.

En utilisant le test « t », dont la formule est présentée ci-dessous, on teste la différence significative entre la MVP et le prix unitaire du facteur de production.

$$t = \frac{(MVP_{xi} - P_{xi})}{SE(MVP_{xi})}$$

$$SE(MVP_{xi}) = \left(SE(bi) \frac{\bar{Y}}{\bar{X}} \right)$$

Où

MVP_{xi} = MVP de la ressource X_i

P_{xi} = Prix par unité de la ressource X_i

$SE(bi)$ = Intervalle de confiance du coefficient de régression associé avec la ressource X_i .

On compare la valeur absolue du calcul de « t » avec la valeur de « t » dans la table pour le cas de tous les facteurs de production aux degrés de liberté ($n - k - 1$) où 'n' est le nombre total des observations et 'k' est le nombre total de variables explicatives. Si le calcul de « t » est inférieur à la valeur de « t » dans la table, on conclut que la différence entre la MVP d'une ressource et son prix unitaire d'acquisition n'est pas significative sur le plan statistique, ce qui indique l'utilisation optimale de la ressource et vice-versa.

RESULTATS ET DISCUSSION

Rapport facteur de production – production :

On ajuste séparément les fonctions de production des cocons pour les sériciculteurs à grande et à petite échelle et les estimations des fonctions sont présentées dans le Tableau I. On calcule que le coefficient de détermination multiple (R^2) est de respectivement 0,768 et de 0,824 pour les sériciculteurs à grande et à petite échelle, ce qui signifie que l'on peut expliquer 76,80 % et 82,40 % de la variation des revenus dans la production de cocons par les variables comprises dans la fonction respective. Cela signifie que la forme choisie pour la fonction de production est la mieux adaptée.

Les valeurs du coefficient de régression (élasticité de la production) sont inférieures à un pour tous les intrants considérés dans la fonction de production mise au point pour les sériciculteurs à grande échelle. Cela montre que chaque facteur de production compris dans la fonction de production suit une productivité marginale en diminution. Les coefficients des pontes saines (0,6657) et des désinfectants (0,4833) sont positifs et significatifs sur le plan statistique pour les sériciculteurs à grande échelle. Cela signifie qu'une augmentation de ces ressources de un % par rapport aux niveaux géométriques moyens contribuerait à une augmentation d'un pourcentage respectif des revenus tirés de la production de cocons. On peut donc en déduire que les désinfectants et les pontes saines sont des variables importantes, qui influencent significativement la production de cocons chez les sériciculteurs à grande échelle. Les coefficients de production des engrais (0,02678), de la main d'œuvre (0,0406) et du fumier (0,03393) ont un signe positif, comme on s'y attendait a priori mais ne sont pas significatifs sur le plan statistique.

Dans la fonction de production mise au point pour les petits sériciculteurs, l'élasticité de la production pour le fumier (0,04379), les désinfectants (0,15929) et les pontes saines (1,2344)

s'avèrent les variables les plus importantes, qui gouvernent la production de cocons, puisque ces coefficients de régression sont positifs et significatifs sur le plan statistique. L'élasticité de production des engrais est positive mais n'est pas significative sur le plan statistique. Le coefficient de régression de la main d'œuvre est inversement lié à la production de cocons avec les petits sériciculteurs, contrairement à ce qui était prévu, mais le coefficient n'est pas significatif sur le plan statistique. Cela pourrait être dû à la sur-utilisation de la main d'œuvre par les petits sériciculteurs dans l'élevage du ver à soie, en raison d'une disponibilité supplémentaire de main d'œuvre familiale.

Marihonnaiah (1986), Kulkarni (1992) et Sumanta Behera (2004) ont constaté que les pontes saines, la main d'œuvre et les désinfectants sont positivement et significativement associés avec la production de cocons. Jayaram (1991) a signalé une association significative et positive du fumier et des engrais avec le rendement foliaire du mûrier irrigué.

Productivité des ressources et efficacité d'utilisation des ressources :

Le ratio entre la MVP et les prix des facteurs fournit une mesure de l'efficacité d'affectation des ressources. Si le ratio est égal à un, on considère que la ressource est efficacement affectée. Un ratio supérieur à un indique la possibilité d'augmenter les ressources en question à la fois pour augmenter la productivité et la rentabilité. Un ratio inférieur à un indique que l'on pourrait diminuer la ressource sans effet négatif sur la production et la rentabilité.

La MVP des intrants utilisés pour la production de cocons avec les sériciculteurs à grande et petite échelle est présentée dans le Tableau II. On peut déduire d'après le Tableau que les MVP des deux intrants à savoir, les désinfectants et les pontes saines sont positives et significativement supérieures à un, ce qui signifie l'utilisation sous-optimale de ces intrants. Kumaresan et coll., (2004) ont signalé une sous-utilisation des désinfectants par les éleveurs de vers à soie dans la production de cocons sans irrigation. Cette analyse indique que les sériciculteurs à grande échelle pourraient d'avantage utiliser les désinfectants et les pontes saines pour améliorer leurs profits dans la production de cocons. Les MPV de la main d'œuvre, des engrais et du fumier ne s'avèrent pas statistiquement différentes de un pour les sériciculteurs à grande échelle, ce qui signifie une utilisation optimale de ces intrants.

Dans le cas des petits sériciculteurs, le ratio entre la valeur marginale de la productivité et le coût d'acquisition par unité est supérieur à un pour les pontes saines et pour les désinfectants. Cela indique que les pontes saines et les désinfectants sont utilisés à des niveaux sous-optimaux. Il y a donc la possibilité d'augmenter l'utilisation de ces intrants au niveau optimal, où l'efficacité de l'utilisation de l'intrant serait maximum. L'efficacité d'affectation est inférieure à un pour le fumier, ce qui signifie sa sur-utilisation. L'affectation inefficace du fumier pourrait être due à son utilisation excessive ou incorrecte. Les MVP des engrais et de la main d'œuvre ne sont pas significatifs sur le plan statistique, ce qui signifie une utilisation optimale de ces intrants chez les petits sériciculteurs.

RESUME ET CONCLUSION

L'objectif de cet article est d'analyser la relation facteur de production – production, la productivité des ressources et l'efficacité d'utilisation des ressources dans la production de cocons, entre les sériciculteurs à grande et à petite échelle. On recueille les données pour l'étude à partir de 60 sériciculteurs à petite et à grande échelle. L'analyse de la fonction de production de cocons indique que les pontes saines et les désinfectants influencent positivement la production de cocons chez les sériciculteurs à grande échelle, tandis que les pontes saines, les désinfectants et le fumier sont les variables importantes qui gouvernent la production de cocons des petits sériciculteurs. En ce qui concerne l'efficacité d'affectation des ressources utilisées, il n'y a pas beaucoup de différence dans l'utilisation des ressources entre les deux catégories de fermes. Les pontes saines et les désinfectants ne sont pas utilisés au mieux de leur efficacité avec les deux catégories d'exploitations. Il existe des possibilités importantes pour augmenter l'utilisation de ces intrants jusqu'à un niveau optimal, de manière à ce qu'ils soient utilisés efficacement.

ROLE OF MULBERRY NUTRITION IN THE MANIFESTATION OF ECONOMIC TRAITS OF SILKWORM RACES UNDER TEMPERATURE STRESS CONDITIONS

FIRDOSE AHMAD MALIK AND Y. SRINIVASA REDDY*

Department of Studies in Sericultural Science, University of Mysore, Manasagangotri,
Mysore - 570 006, India.

Commercial cocoon production in Indian tropical climates is largely dependent on mulberry nutrition, ambient temperature and silkworm race. Mulberry nutrition and temperature interact in a complex manner in different silkworm races resulting in varying yield gaps. The yield gaps were relatively more in elite silkworm races than in indigenous races. Though gross estimates of the performance of different races in different seasons are available, the factors involved in gene-environment interaction are not known. Also, comparative bioassay studies on recently introduced high yielding mulberry variety viz., V-1 and highly productive silkworm race viz., CSR₂ with the existing mulberry varieties and silkworm races have not been undertaken. The economic characters of three selected silkworm races viz., PM, NB₄D₂ and CSR₂ on three mulberry varieties viz., V-1, S-36 and M-5 in hot and dry summer season are therefore studied, and the physiological basis of manifestation of each character is explained.

Keywords: *Bombyx mori*, Mulberry varieties, Economic traits, Temperature stress.

INTRODUCTION

The mulberry silkworm, *Bombyx mori*, is a domesticated and monophagous insect and feeds only on the leaves of mulberry. The larval growth and cocoon productivity largely depend on the ambient environment and nutritive quality of the mulberry leaf (Yokoyama, 1963). Normal silk production and weight of the matured larvae during 5th instar are directly related to protein content of the leaves. About 70% of the silk protein produced by the silkworm is directly derived from the proteins of the mulberry leaves. (Fukuda, 1960). Mulberry leaf should not contain less than 3-3.5% of the total nitrogen and 5-8% soluble carbohydrates to support normal larval growth and development (Arsenev and Bromelei, 1957). The nutritional value and chemical composition of the mulberry leaf depend mainly on mulberry variety, agronomical practices and environmental factors (Datta, 1992). The breeds of the mulberry silkworm differ in their nutritional requirements for growth and cocoon production. Although, the nutritional levels of mulberry leaves are believed to differ among mulberry genotypes and agro-climatic and edaphic factors within the genotype, it is not known how the differences in leaf quality contribute to the development of cocoon characters of the silkworm. The quantity and quality of the food consumed by larvae influence their performance including growth rate, development time, final body weight and probability of survival (Murugan and George, 1992). The degree of food assimilation and the quality of secreted silk differ from one race to another when fed on the same variety of mulberry (Hassanein *et al.*, 1972). The genotypic potential of the race on one hand and environment and nutritional factors on the other control and determine the limits of cocoon production. Therefore, it is important to study the interactions between the host plant and

* Correspondence to: Prof. Y. Srinivasa Reddy, #233, Vijayanagara III Stage, D Block, II Main, Mysore. 570 017, Karnataka, India.

silkworm breed, and with the environment to understand in quantitative terms gene expression in relation to environment. The present study was undertaken to study the role of nutrition in coping with the high temperature stress conditions of tropical Indian climatic conditions in three selected races of the silkworm, *Bombyx mori* by evaluating manifestation of economic traits, and the results are discussed in the light of physiological compensatory mechanisms observed in the three races in response to nutritional variations and high ambient temperature.

MATERIALS AND METHODS

Disease free layings (DFLs) of three silkworm races viz. PM, NB4D2 and CSR2 were brushed and the larvae of the three races were reared separately on fresh leaves of three mulberry varieties viz., V-1, S-36 and M-5 by following standard rearing technique (Dandin *et al.*, 2003). The experiment was conducted in summer season (March-April) when the ambient temperature was 30-35°C. At the beginning of 3rd instar, only 300 larvae were retained in each replication for further rearing. Observations on the growth parameters of larvae like the larval weight, larval duration, silk gland weight and effective rate of rearing, and productivity in terms cocooning percentage, silk productivity, pupal weight, estimated cocoon yield, fecundity, single cocoon weight, shell weight and shell percentage were recorded.

Cocoon yield, growth index, silk gland somatic index, silk conversion index and silk productivity were calculated by using the following formulae:

$$1) \text{ Cocoon yield (kg/ 100 DFLs)} = \frac{\text{CYR} \times \text{EH} / 100 \times 40,000}{\text{NLR}} \times 100$$

Where,

CYR = Cocoon yield per replication

EH = Egg hatching percentage

NLR = No. of larvae per replication

$$2) \text{ Silk productivity} = \frac{\text{Shell weight (cg)}}{\text{5th instar larval duration}}$$

$$3) \text{ Silk gland somatic index} = \frac{\text{Silk gland weight (g)}}{\text{Mature larval weight (g)}} \times 100$$

$$4) \text{ Silk conversion index} = \frac{\text{Shell weight (g)}}{\text{Silk gland weight (g)}} \times 100$$

$$5) \text{ Growth index} = \frac{N}{AV}$$

Where,

N = Percentage of pupation

AV = Larval duration in days

Analysis of variance was used to test the significance of differences in the means of economic characters of the silkworm races reared on the mulberry varieties viz., V-1, S-36 and M-5. Tukeys (1953) multiple comparison tests were used to find significance of differences between the races and mulberry varieties. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

RESULTS

The results on economic traits of silkworm races reared on different mulberry varieties are presented in Tables I-III.

Larval weight:

The mean weight of larvae feeding on the leaves of V-1 was found to be significantly higher (4.32g) than those feeding on the leaves of S-36 (4.09g) and M-5 (2.97g) (Table.1). Among the silkworm races, relatively higher larval weight was observed in CSR₂ (4.40g) followed by NB₄D₂ (4.30g) and PM (2.69g). Higher larval weight was observed in NB₄D₂ on V-1 variety (5.05g) than on S-36 (4.57g) and M-5 (3.27g), in CSR₂ on V-1 (5.00g) than on S-36 (4.89) and M-5 (3.32g) and in PM, on V-1 (2.93g) than on S-36 (2.81) and M-5 (2.33g).

Silk gland weight:

The mean silk gland weight of all the races on V-1 was found to be significantly higher (1.36g) than on S-36 (1.21g) and on M-5 (1.0g). CSR₂ showed a relatively higher mean weight of silk gland (1.56g) followed by NB₄D₂ (1.30g) and PM (0.71g). A significantly higher silk gland weight was observed in CSR₂ on V-1 (1.76g) than on S-36 (1.64g) and M-5 (1.27g); in NB₄D₂ on V-1 (1.53g) than on S-36 (1.24g) and M-5 (1.13g) and in PM on V-1 (0.79g) than on S-36 (0.76g) and M-5 (0.60g).

Larval duration

There was no significant difference in the larval duration between larvae feeding on V-1 (22.22days) and S-36 (22.22days), but the larval duration was prolonged in larvae feeding on M-5 (23.4days). PM showed a relatively longer larval duration (24.22days) than CSR₂ (21.92days) and NB₄D₂ (21.7 days). A significant decrease in the larval duration was observed in PM on V-1 (23.5) and S-36 (23.5days) varieties compared to M-5 (25.5days). However, in the bivoltine races NB₄D₂ and CSR₂, no significant difference in the larval duration was noticed on V-1 (21.5days) and S-36 (21.5days) while CSR₂ on M-5 showed a relatively longer larval duration (22.6days) than NB₄D₂ (22days).

Rate of Cocooning:

The mean cocooning rate of all the races was relatively higher on V-1 (98.94%) than on S-36 (98.68%) and M-5 (95.71%). The larvae of PM showed a relatively higher mean cocooning rate (98.72%) than NB₄D₂ (97.78%) and CSR₂ (96.83%). A significant increase in the cocooning rate was observed in PM on S-36 (99.41%) and V-1 (99.39%) varieties than on M-5 (94.56%) whereas in bivoltine races, NB₄D₂ showed a higher cocooning rate on V-1 (98.94%) than on S-36 (98.68%) and M-5 (95.71%) and CSR₂ on V-1 (98.61%) than on S-36 (97.28%) and M-5 (94.39%).

Rate of pupation/

The mean pupation rate of all the races was relatively higher on V-1 (98.37%) than on S-36 (98.01%) and M-5 (91.90%). PM showed higher mean pupation rate of (97.83%) than NB₄D₂ (95.33%) and CSR₂ (95.33%). Among the races, the pupation rate in PM on V-1 was 98.71% whereas on S-36 and M-5 it was 98.70% and 96.10% respectively. Between the two bivoltine races, the pupation rate in NB₄D₂ was 98.2% on V-1, 97.50% on S-36 and 90.30% on M-5. CSR₂ also showed higher pupation rate on V-1 (98.20%) than on S-36 (97.83%) and M-5 (89.30%).

Effective rate of rearing (ERR):

The mean ERR of all the races was higher on V-1 (93.21%) than on S-36 (91.48%) and M-5 (82.74%). The highest mean of ERR was observed in PM (92.23%) followed by NB₄D₂ (88.14%) and CSR₂ (87.56%). A significantly higher ERR was noticed in PM on V-1 (94.32%) and S-36 (94.13%) than on M-5 (88.23%).

Table I. Influence of mulberry varieties on the economic traits of different breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau I. Influence des variétés de mûrier sur les caractères économiques de différentes lignées du ver à soie, *Bombyx mori* L.

Treatments	Mature larval weight (g)	Silk gland weight (g)	Larval duration (days)	Rate of Cocooning (%)	ERR (%)	Rate of pupation (%)	Cocoon yield (kg/100 DFLs)
Traitements	Poids larvaire mûr (g)	Poids de la glande séricigène (g)	Durée larvaire (jours)	Taux de formation de cocons (%)		Taux de nymphose (%)	Rendement en cocons (kg / 100 pontes saines)
Mulberry variety / Variété de mûrier							
1. V-1	4.32	1.36	22.22	98.94	93.21	98.37	54.48
2. S-36	4.09	1.21	22.22	98.68	91.98	98.01	51.43
3. M-5	2.97	1.00	23.40	95.71	82.74	91.90	41.22
F-test	**	**	**	**	**	**	**
Silkworm race / Race de ver à soie							
1. PM	2.69	0.71	24.22	98.72	92.23	97.83	36.78
2. NB ₄ D ₂	4.30	1.30	21.70	97.78	88.14	95.33	57.23
3. CSR-2	4.40	1.56	21.92	96.83	87.56	95.11	53.12
F-test	**	**	**	**	**	**	**
Interaction							
1. PM × V-1	2.93	0.79	23.5	99.39	94.13	98.71	38.37
2. PM × S-36	2.81	0.76	23.5	99.41	94.32	98.70	38.91
3. PM × M-5	2.33	0.60	25.5	94.56	88.23	96.10	33.06
4. NB ₄ D ₂ × V-1	5.05	1.53	21.5	98.94	93.25	98.20	66.65
5. NB ₄ D ₂ × S-36	4.57	1.24	21.5	98.68	90.84	97.50	57.66
6. NB ₄ D ₂ × M-5	3.27	1.13	22.0	95.71	80.32	90.30	47.38
7. CSR ₂ × V-1	5.00	1.76	21.5	98.61	92.26	98.20	58.44
8. CSR ₂ × S-36	4.89	1.64	21.5	97.28	90.77	97.83	57.72
9. CSR-2 × M-5	3.32	1.27	22.6	94.39	79.66	89.30	43.22
F-test	**	**	NS	**	**	**	**

*Significant at 5% ($P < 0.05$) / Significatif au seuil de 5 % ($P < 0,05$). ** Significant at 1% ($P < 0.01$) / Significatif au seuil de 1 % ($P < 0,01$).

NS- Non Significant / Non significatif.

Between the two bivoltine races, NB₄D₂ showed a relatively higher ERR on V-1 (93.25%) than on S-36 (90.84%) and M-5 (80.32%) while CSR₂ showed ERR of (92.26%) on V-1 followed by S-36 (90.77%) and M-5 (79.66%).

Table II. Influence of mulberry varieties on the economic traits of different breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Tableau II. Influence des variétés de mûrier sur les caractères économiques des différentes lignées du ver à soie, Bombyx mori L.

Treatments	Cocoon weight	Shell weight (g)	Shell ratio (%)	Pupal weight (g)	Fecundity (eggs / laying)
Traitements	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Poids de la chrysalide (g)	Fécondité (oeufs / ponte)
Variety / Variété					
1. V-1	1.52	0.30	19.20	1.22	581
2. S-36	1.46	0.27	18.22	1.18	546
3. M-5	1.30	0.21	15.68	1.09	460
F-test	**	**	**	**	**
Race					
1. PM	1.03	0.13	12.97	0.90	412
2. NB ₄ D ₂	1.68	0.30	18.01	1.37	640
3. CSR-2	1.57	0.35	22.13	1.22	535
F-test	**	**	**	**	**
Interaction					
1. PM × V-1	1.06	0.149	14.03	0.92	437
2. PM × S-36	1.07	0.144	13.41	0.92	419
3. PM × M-5	0.97	0.113	11.49	0.86	381
4. NB ₄ D ₂ × V-1	1.86	0.360	19.36	1.50	716
5. NB ₄ D ₂ × S-36	1.65	0.311	18.85	1.34	667
6. NB ₄ D ₂ × M-5	1.53	0.243	15.82	1.29	538
7. CSR ₂ × V-1	1.65	0.400	24.22	1.25	591
8. CSR ₂ × S-36	1.65	0.372	22.42	1.28	554
9. CSR-2 × M-5	1.41	0.278	19.75	1.13	462
F-test	**	**	**	**	**

* Significant at 5% ($P < 0.05$) / *Significatif au seuil de 5 % ($P < 0.05$).*

** Significant at 1% ($P < 0.01$) / *Significatif au seuil de 1 % ($P < 0.01$).*

NS- Non Significant / *Non significatif.*

Cocoon yield:

The highest mean cocoon yield (cocoons harvested in Kg./100DFLs) of all the races was relatively higher on V-1 (54.48) followed by S-36 (51.43) and M-5 (41.22). NB₄D₂ showed a relatively higher mean cocoon yield (57.23) than CSR₂ (53.12) and PM (36.78). A significant increase

in the cocoon yield was observed in NB₄D₂ on V-1 (66.65) followed by S-36 (57.66) and M-5 (47.38) while in CSR₂ higher cocoon yield was observed on V-1 (58.44) and S-36 (57.72) than on M-5 (43.22). However, in PM no significant difference in the cocoon yield was noticed between V-1 (38.37) and S-36 (38.91) but the cocoon yield was lower on M-5 (33.06).

Table III. Silk gland index, silk conversion index, silk productivity and growth index in relation to nutrition in different races of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Tableau III. Indice de la glande séricigène, indice de conversion de la soie, productivité en soie et indice de croissance en fonction de la nutrition chez différentes races du ver à soie, *Bombyx mori* L.

Treatments	Silk gland Somatic index (%)	Silk conversion (%)	Silk productivity (cg/day)	Growth index
Traitements	Indice somatique de la glande séricigène (%)	Indice de conversion de la soie (%)	Productivité en soie (cg / jour)	Indice de croissance
Mulberry variety / Variété de mûrier				
1. V-1	31.48	22.06	4.78	4.42
2. S-36	29.58	22.31	4.35	4.41
3. M-5	33.67	21.00	2.75	3.92
F-test	**	**	**	**
Silkworm race / Race de ver à soie				
1. PM	26.39	18.31	1.90	4.03
2. NB ₄ D ₂	30.23	23.08	4.59	4.39
3. CSR-2	35.45	22.44	5.38	4.33
F-test	**	**	**	**
Interaction				
1. PM × V-1	26.96	18.86	2.18	4.20
2. PM × S-36	27.05	18.95	2.10	4.20
3. PM × M-5	25.75	18.83	1.43	3.76
4. NB ₄ D ₂ × V-1	30.30	23.53	5.64	4.56
5. NB ₄ D ₂ × S-36	27.13	25.08	4.86	4.53
6. NB ₄ D ₂ × M-5	34.56	21.50	3.29	4.10
7. CSR ₂ × V-1	35.20	22.73	6.52	4.56
8. CSR ₂ × S-36	33.54	22.68	6.08	4.55
9. CSR-2 × M-5	38.25	21.89	3.54	3.95
F-test	**	**	**	NS

* Significant at 5% ($P < 0.05$) / Significatif au seuil de 5 % ($P < 0,05$).

** Significant at 1% ($P < 0.01$) / Significatif au seuil de 1 % ($P < 0,01$).

NS- Non Significant / Non significatif.

Cocoon weight:

The mean cocoon weight of all the races was high in the larval batches fed with the leaf of V-1 variety (1.52g) followed by S-36 (1.46g) and M-5 (1.30g). NB4D₂ showed a relatively higher mean cocoon weight (1.68g) followed by CSR₂ (1.57gm) and PM (1.03g). A significant increase in the cocoon weight was noticed in NB4D₂ on V-1 (1.86g) followed by S-36 (1.65g) and M-5 (1.53g) while in CSR₂ no significant difference in the cocoon weight was observed between V-1 (1.65g) and S-36 (1.65g) but the cocoon weight was lower on M-5 (1.41g). In PM higher cocoon weight was observed on S-36 (1.07g) than on V-1 (1.06g) and M-5 (0.97g).

Shell weight:

The mean shell weight of all the races was relatively higher on V-1 (0.30g) than on S-36 (0.27g) and M-5 (0.21g). CSR₂ showed a relatively higher mean shell weight than NB4D₂ (0.35g) and PM (0.13g). Higher shell weight was observed in CSR₂ on V-1 (0.400g) than on S-36 (0.372g) and M-5 (0.278) and in NB4D₂ on V-1 (0.360g) than on S-36 (0.311g) and M-5 (0.243g). In PM, also the higher shell weight was observed on V-1 (0.149g) than on S-36 (0.144g) and M-5 (0.113g).

Shell ratio:

The mean shell ratio of all the races were relatively more on V-1 (19.20%) followed by S-36 (18.22%) and M-5 (15.68%). CSR₂ showed a relatively higher shell ratio (22.13%) followed by NB4D₂ (18.01%) and M-5 (12.97%). A significant increase in the shell ratio was observed in CSR₂ on V-1 (24.22%) followed by S-36 (22.42%) and M-5 (19.75%). NB4D₂ showed a relatively higher shell ratio on V-1 (19.36%) and S-36 (18.85%) than on M-5 (15.82%). PM also showed a higher shell ratio on V-1 (14.03%) and S-36 (13.41%) and M-5 (11.49%).

Pupal weight:

The mean pupal weight of all the races was relatively higher on V-1 (1.22g) followed by S-36 (1.18g) and M-5 (1.09g). NB4D₂ showed a relatively higher mean pupal weight (1.37g) followed by CSR₂ (1.22g) and PM (0.90g). However, a significant increase in the pupal weight was observed in NB4D₂ on V-1 (1.50g) followed by S-36 (1.34g) and M-5 (1.29g). The pupal weight in CSR₂ was relatively higher on S-36 (1.28g) followed by V-1 (1.25g) and M-5 (1.13g). The pupal weight in PM did not show any significant difference between V-1 (0.92g) and S-36 (0.92g) but was significantly less on M-5 (0.86g).

Fecundity:

The average number of eggs in all the races (expressed in the number of eggs/laying) was high with V-1 (581) followed by S-36 (546) and M-5 (460). The average number of eggs laid was relatively high in NB4D₂ (640) followed by CSR₂ (553) and PM (412). However, higher fecundity was observed in NB4D₂ on V-1 (716) than on S-36 (667) and M-5 (538) and the fecundity in CSR₂ was higher on V-1 (591) than on S-36 (554) and M-5 (462). The multivoltine PM also showed a higher fecundity on V-1 (437) followed by S-36 (414) and M-5 (381).

Growth index:

There was no significant difference in the mean growth index of all the races between V-1 (4.42) and S-36 (4.41), but there was a decrease in the growth index on M-5 (3.92). Among the races, NB4D₂ showed a relatively higher growth index (4.39) followed by CSR₂ (4.33) and PM (4.03). In the bivoltine races no significant difference in the growth index was observed between NB4D₂ and CSR₂ on V-1 (4.56, 4.56) and S-36 (4.53, 4.55) but on M-5 the growth indices in NB4D₂ and CSR₂ were 4.10 and 3.95 respectively. The growth indices in PM were 4.2 on V-1, 4.20 on S-36 and 3.76 on M-5.

Silk productivity:

The mean silk productivity of all the races was more on V-1 (4.78cg/day) than on S-36 (4.35cg/day) and M-5 (2.75cg/day). CSR₂ showed a relatively higher mean silk productivity than NB₄D₂ (4.59cg/day) and PM (1.90cg/day). A relatively higher increase in the silk productivity was noticed in CSR₂ on V-1 (6.52cg/day) than on S-36 (6.08cg/day) and M-5 (3.54cg/day). NB₄D₂ showed more silk productivity on V-1 (5.64cg/day) than on S-36 (4.86cg/day) and M-5 (3.29cg/day). In PM, a significant increase in the silk productivity was observed on V-1 (2.18cg/day) followed by S-36 (2.10cg/day) and M-5 (1.43cg/day).

Silk gland somatic index:

The mean silk gland-somatic index of the races was more on M-5 (33.67%) than on V-1 (31.48%) and S-36 (29.58%). Among the races, CSR₂ showed a relatively higher mean silk gland somatic index (35.45) followed by NB₄D₂ (30.23%) and PM (26.39%). A significantly higher silk gland somatic index was observed in CSR₂ on M-5 (38.25%) than on V-1 (35.20%) and S-36 (33.54%) and in NB₄D₂ on M-5 (34.56%) than on V-1 (30.30%) and S-36 (27.13%). In PM, higher silk gland somatic index was observed on S-36 (27.05%) than on V-1 (26.96%) and M-5 (25.75%).

Silk conversion index:

The mean silk conversion index of the races was relatively higher on S-36 (22.31%) than on V-1 (22.06%) and M-5 (21%). The larvae of NB₄D₂ showed a relatively higher mean silk conversion index (23.08%) than those of CSR₂ (22.44%) and PM (18.31%). A significantly higher silk conversion index was noticed in NB₄D₂ on S-36 (25.08%) than on V-1 (23.53%) and M-5 (21.50%). The silk conversion indices in CSR₂ were 22.73% on V-1, 22.68% on S-36 and 21.89% on M-5. In PM the differences in silk conversion index on S-36 (18.95%), V-1 (18.86%) and M-5 (18.83%) were not statistically significant.

DISCUSSION

Industrial cocoon production in the silkworm, *Bombyx mori* L. is dependent on a number of external and internal factors. The quality of the mulberry leaf and environment are the major external factors influencing cocoon production to the extent of 38.2% and 37% respectively (Miyashita, 1986). The quality of mulberry leaf itself is influenced by a number of factors like mulberry variety and agro-climatic conditions (Patil *et al.*, 2001). The internal factors influencing cocoon production are the breed potential (4.2%) and quality of the seed (3.1%). The figures provided were gross estimates and supportive studies on the physiological basis of overt expression of the economic characters in response to nutrition and environment in the mulberry silkworm are not available. The mulberry varieties used in the present study are known for their unique features. M-5, a popular indigenous mulberry variety, is relatively poor in moisture and nutritive value when compared to the other two varieties. The leaves of S-36 mulberry variety are succulent and have relatively high moisture content whereas those of V-1 are glossy and have high moisture content and nutritive value. The three races viz., PM, NB₄D₂ and CSR₂ responded differently in their larval growth and development and cocoon production in response to feeding with the leaves of the three mulberry varieties. The improvement in the economic characters of the three races with the two elite mulberry varieties of S-36 and V-1 was evaluated using M-5 as base value. The improvement in mature larval weight was 20-25% in PM whereas it was 40-54% in the two-bivoltine races (Table I). The genetic potential in the two-voltine groups limits the maximum larval growth despite feeding on leaf of good quality. The larval growth was relatively higher with V-1 in all the three races on account of its nutritional superiority, high moisture content and high moisture retention capacity. The larval duration was also decreased when fed with S-36 and V-1 varieties as maximum growth was attained sooner in all the three races on account of feeding relatively more nutritious leaf of V-1 and S-36 (Table I) and higher metabolic rate consequent to higher ambient temperature. The duration of each larval stadium, though is a genetic

trait is flexible within certain limits in each instar. The actual duration of the instar depends on the weight gain attained at the end of growth phase for the instar. Each instar is marked by a minimal and maximal limit of weight gain before passing into the next instar. The duration of the instar is prolonged if the minimal weight for the instar is not reached, and the duration reduced when the maximal weight is reached sooner by higher growth rate in the instar. The changes in the duration of each instar occur within permissible limits of not exceeding a few hours and if mandatory minimal limits of larval growth are not reached at the end of the larval growth phase, supernumerary moults occur in some insects in order to provide for shortage of biomass accumulation before pupation occurs (Wigglesworth, 1972). The mulberry silkworm, when underfed, become weak and fails to grow in size. The difference in the larval duration of the three races with M-5 and S-36 and V-1 could be attributed to the variations in the nutritional quality of the leaves of the three mulberry varieties. The three mulberry varieties were grown under irrigated conditions observing the recommended package of practices and thus expected to have the best quality of leaf for that variety in the season. The multivoltine PM has relatively lower growth rate and longer feeding period and hence compensates its metabolic rate to some extent even under adverse conditions. Geetha (1998) reported larval duration of 29.8 days and 26.2 days in rain fed conditions without any manure inputs as against 25.5 and 22.0 days under irrigated conditions receiving recommended doses of fertilizers respectively in PM and NB4D2 on the leaf of M-5 variety. The relatively longer larval duration in PM could be attributed to lower larval growth rates than the bivoltine larvae. Haniffa *et al.* (1994) observed extended larval duration in each instar when the number of feeds was reduced from 8 to 2. The results on matured larval weight also corroborate the observations on larval duration. The mature larval weight with M-5 variety was significantly less in all the three races in comparison with the larval weights on the leaf of S-36 and V-1 varieties (Table I). An increase in the larval duration upon feeding leaf of M-5 is a sign of poor leaf quality which does not support the required rate of growth during each instar of larval development. The larval durations are different in same race in different seasons and when fed on different mulberry varieties (Muthukrishnan and Delvi, 1974; Mathawan and Muthukrishnan, 1976; Haniffa and Periasamy, 1981).

ERR and cocoon yield by number are correlated traits. ERR was higher in indigenous multivoltine PM than the productive bivoltines (Table I). ERR is relatively less on M-5 variety in all the three races which suggests that nutrition plays a significant role in survival under adverse climatic conditions. The higher room temperature of summer (when the rearing was conducted) has an adverse effect on the normal silkworm development. Better nutrition with S-36 and V-1 minimizes the damaging influence of high ambient temperatures even in a temperature tolerant race like PM. The role of nutrition in temperature tolerance is better manifested in bivoltine races and more significant in a high yielding and temperature sensitive race like CSR₂ with an ERR of 79.6% on M-5 and 90.77% and 92.26% on S-36 and V-1 respectively. A number of thermo-tolerant bivoltine silkworm breeds were evolved for rearing during adverse climatic conditions of tropical summer season (Naseema Begum *et al.*, 2001). Mulberry leaf of high nutritious value is a necessary prerequisite for successful cocoon harvest despite breed potential for thermotolerance in such races.

Cocoon yield (kg/100dfls) and cocoon weight in the three selected races also showed a significant difference with the leaf of the three varieties. The cocoon yield and weight were higher in the batches fed with superior mulberry varieties like V-1 and S-36 compared to M-5, thus showing that both survivability and cocoon production greatly depend on the nutritional support. But, the shell weight and shell ratio were higher in CSR₂ on V-1. The two correlated traits depend on the activity of genes related to silk gland development and silk protein biosynthesis. Silk gland forms an important organ in the silkworm. It constitutes roughly 40% of the body weight of the larvae. The silk gland weight in ripe larvae is a racial feature but varied within the race with different mulberry varieties (Table III) suggesting a role for nutrition in gene expression. The growth of silk gland is marked by the accumulation of organic compounds particularly proteins during larval growth period (Ito, 1967; Tazima, 1978). The weight of the silk gland and shell weight and shell ratio are relatively more in CSR₂ than NB4D2, despite higher cocoon weight in NB4D2. Singh and Vineet Kumar (1996) reported

a highly significant positive correlation of (0.951) between silk gland weight and shell weight. The results indicate a clear difference in the way the biomass is utilized by the two races during the 5th instar larvae towards cocoon production and egg production. In the case of CSR₂, the genetic trait controlling fecundity limits the egg number to less than 600. The amino acid nitrogen is preferentially used for silk biosynthesis leading to attainment of higher shell weight and shell ratio over 24% (Table II). In the case of NB4D₂, where the genetic trait controlling fecundity exceeding 600 and reaching upto 700 (Table II) and shell ratio being less than 20%, the excess protein or amino acid nitrogen with protein rich V-1 and S-36 varieties is favoured for vitellogenesis. The fat body tissue of the silkworm has high transaminase activity and hence can generate non-essential amino acids like glycine, serine and alanine and ketoacids needed in larger quantity for the synthesis of both silk protein and vitellin from the amino acid pool. Horie (1999) reported the utilization of amino acids after deamination for fatty acid biosynthesis in different races of the mulberry silkworm, *Bombyx mori*.

Gokulamma (2006) reported higher levels of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in CSR₅ and NB4D₂ than PM. Haniffa *et al.* (1994) observed a positive correlation between nutrient intake and egg production. Their studies on food limitation (decrease in feed number) reported that the number of eggs laid decreased as the number of feeds was reduced in the silkworm, *Bombyx mori*. The ability to utilize the proteins and amino acids in fatty acid biosynthesis appears to be more in races showing greater fecundity levels. In the bivoltine silkworm breeding program, it is therefore more rewarding if selection procedure is applied for lower fecundity for better manifestation of genes controlling silk productivity. Silk productivity was relatively better in CSR₂ than NB4D₂ (Table II) with V-1 and S-36.

The silk gland somatic index (SSI) represents the biomass of the silk gland in relation to total body weight. The value for all the races is relatively higher with M-5 followed by V-1 and S-36 (Table III). The silk gland somatic indices in the two-bivoltine races feeding on V-1 and S-36 were lower than on M-5. The bivoltine races especially those of temperate origin have greater tendency to channelize the resources towards cocoon production even under nutrition stress conditions. CSR₂ was evolved by cross between two Japanese parents (Shurei × Shogetsu). Tazima (1978) reported that silk gland contributes to 40% of the body of the larvae. The high silk content of the bivoltine cocoon protects the pupae from very low temperatures prevailing in temperate climates. NB4D₂ is an evolved bivoltine and acclimatized to Indian tropical climates. A less hardy cocoon allows better exchange of gasses across the cross section of the shell and thus provides more oxygen to support relatively higher metabolic rate of pupae. Singh and Vineet Kumar (1996) reported 27.9% of silk gland somatic index in NB₁₈ a bivoltine race suited to tropics. Silk conversion index (SCI) is the ratio of shell weight to silk gland weight. The SCI values were lower for CSR₂ than NB4D₂ (Table III). Thus, the silk gland of NB4D₂ though was having relatively higher silk content in the lumen of the silk gland spins less fiber in weight than CSR₂. A qualitative difference in the silk stored in the lumen of the silk gland of NB4D₂ and CSR₂ is apparent. The silk biosynthesized and stored in the lumen of the silk gland of NB4D₂ appears to be more hydrated and loses more water when the liquid silk is forcibly expelled through the spinneret.

Growth index is the ratio of pupation (%) to larval duration. The mean growth index was lower on M-5 variety (Table III) due to higher pupal mortality and longer larval duration. Higher mean growth index in NB4D₂ is due to the relatively higher survival rate with the three mulberry varieties whereas CSR₂ though performed on par with V-1 and S-36 showed significantly lower growth index with M-5 due to higher pupal mortality of CSR₂ larvae feeding on the leaf of M-5 (Table I). The low growth index in PM in spite of better pupation rate (Table I) is attributed to longer larval duration, which is genetic trait for the PM race.

REFERENCES

- ARSENEV A.F. AND BROMELEI N.V. (1957) The effect of various food components on the yield and vitality of the mulberry and oak silkworm. Tr. Mosk. Vet. Akad., 21: 168-196.

- DANDIN S.B., JAYANT JAYASWAL AND GIRIDHAR K. (2003) *Handbook of Sericulture Technologies*. Central Silk Board, Bangalore, p. 287.
- DATTA R.K. (1992) Guidelines for Bivoltine rearing. Central Silk Board, Bangalore, India, p. 18.
- FUKUDA T. (1960) The correlation between the mulberry leaves taken by the silkworm, the silk protein in the silk gland and silk filament. *Bull. Ser. Exp. Sta.*, 15: 605-610.
- GEETHA K.N. (1998) Studies on the evaluation of nutritive components of mulberry leaf and their influence on the expression of economic traits in the silkworm, *Bombyx mori* L. Ph.D. Thesis University of Mysore. Mysore.
- GOKULAMMA K. (2006) Evaluation of selected indigenous and productive races of *Bombyx mori* L. on the basis of environmental and nutritional parameters. Ph.D. Thesis University of Mysore. Mysore.
- HANIFFA M.A., THOMAS PUNITHAM M. AND ARUNACHALAM S. (1994) Effect of Larval nutrition on survival, growth and reproduction in the silkworm *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 28: 563-575.
- HANIFFA M.A., AND PERIASAMY K. (1981) Effect of ration level on nymphal development and food utilization in *Acrotylus insubricus* (Scopali) (Orthoptera: Acrididae). *Acrida*, *Sericologia*, 10: 91-102.
- HASSANEIN H., SHARAWY M.F.E. & ELGARHA A. T. (1972) Food assimilation and the output of silk in different races of the silkworm, *Bombyx mori* L., *Bull. Soc. Entomol. Egypt* 56: 333-337.
- HORIE Y. (1999) In *Advances in mulberry sericulture* edited by (M.C. Deviaiah, K.C. Narayanan Swamy, V.G. Maribashetty) C.V.G. publication Bangalore, pp. 332-663.
- ITO H. (1967) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Proc. Jpn. Acad. Scie.* 43: 57-61.
- MATHAWAN S. AND MUTHUKRISHNAN J. (1976) Effect of ration levels and restriction of feeding duration on food utilization in *Danaus chrysippus* (Lepidoptera : Danidae). *Ent. Exp. Appl.*, 19: 155-162.
- MIYASHITA Y. (1986) A report on mulberry cultivation and training methods suitable to bivoltine rearing in Karnataka. pp. 1-7.
- MURUGAN K. AND ANCY GEORGE (1992) Feeding and Nutritional influence on growth and reproduction of *Daphnis nerii* (Linn) (Lepidoptera: sphingidae). *J. Insect. Physiol.*, 38: 961-967.
- MUTHUKRISHNAN J AND DELVI M.R. (1974) Effect of ration level on food utilization in the grasshopper *Poecillocerus pictus*. *Oecologia*, 16: 227-236.
- NASEEMA BEGUM A., BASAVARAJA H.K., REKHA M., AHSAN M.M. AND DATTA R.K. (2001) Identification of breeding resource material for the development of thermo-tolerant breeds in the silkworm, *Bombyx mori*. *Int. J. Indus. Entomol.*, 2: 111-117.
- PATIL S.V., MALIKARJUNAPPA R.S., DAMDIN, S.B. AND ESWARA RAO M.S. (2001) Evaluation of improved genotypes of mulberry through leaf chemical analysis and bioassay with silkworm race NB4D2. *Sericologia*, 41: 219-226.
- SINGH G.P. AND VINEET KUMAR (1996) Correlation study on larval silk gland and shell weight in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Entomon*, 21: 277-279.
- TAZIMA Y. (1978) *The silkworm: An important laboratory tool*. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan.
- TUKEY J.W. (1953) The problem of multiple comparison. (In: *Statistical Methods by Snedecor G. W.* Iowa state college press, Ames).
- YOKAYAMA T. (1963) 'Sericulture'. *Annual Review of Entomology*. 8: 287-298.
- WIGGLESWORTH V.B. (1972) *The principles of insect physiology*. 7th ed. Chapman and Hall, London. P. 827.

INFLUENCE DE LA NUTRITION AVEC LE MURIER SUR LA MANIFESTATION DES CARACTERES ECONOMIQUES CHEZ LES RACES DE VER A SOIE DANS DES CONDITIONS DE STRESS DE TEMPERATURE

FIRDOSE AHMAD MALIK & Y. SRINIVASA REDDY*

Department of Studies in Sericultural Science, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore -570 006, Inde.

La production commerciale de cocons dans les climats tropicaux Indiens dépend dans une large mesure de la nutrition avec le mûrier, de la température ambiante et de la race de ver à soie. La nutrition avec le mûrier et la température entrent en interaction d'une manière complexe chez les différentes races de vers à soie, ce qui entraîne des écarts de rendement variés. Les écarts de rendement sont relativement plus importants chez les races de vers à soie supérieures que chez les races indigènes. Bien qu'il existe des estimations brutes de la performance des différentes races pendant les différentes saisons, les facteurs impliqués dans l'interaction gène – environnement ne sont pas connus. De même, aucune étude d'évaluation biologique comparative n'a été entreprise sur les variétés de mûrier à rendement élevé introduites récemment, telle que V1 et sur une race de ver à soie très productive telle que CSR2 ainsi que sur les variétés de mûrier et les races de ver à soie existantes. On a donc étudié les caractères économiques des trois races de ver à soie sélectionnées, c'est-à-dire, PM, NB4D2 et CSR2 sur trois variétés de mûrier, V-1, S-36 et M-5 pendant la saison d'été chaude et sèche et nous expliquons la base physiologique de la manifestation de chaque caractère.

INTRODUCTION

Le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* est un insecte domestiqué et monophage qui se nourrit seulement sur les feuilles du mûrier. La croissance larvaire et la productivité des cocons dépendent en grande partie de l'environnement ambiant et de la qualité nutritionnelle de la feuille de mûrier (Yokoyama, 1963). La production de soie normale et le poids des larves mûres du 5^{ème} âge sont directement liés à la teneur en protéines des feuilles. Environ, 70 % des protéines de soie produites par le ver à soie sont directement tirées des protéines des feuilles de mûrier (Fukuda, 1960). La feuille de mûrier ne devrait pas contenir moins de 3 à 3,5 % d'azote total et moins de 5 à 8 % d'hydrates de carbone solubles pour contribuer à la croissance et au développement larvaire normaux (Arsenev et Bromelei, 1957). La valeur nutritionnelle et la composition chimique de la feuille de mûrier dépendent principalement de la variété de mûrier, des pratiques agronomiques et des facteurs environnementaux (Datta, 1992). Les besoins nutritionnels des lignées de ver à soie du mûrier diffèrent pour la croissance et pour la production de cocons. Bien qu'on pense que les niveaux nutritionnels des feuilles de mûrier diffèrent entre les génotypes de mûrier et en fonction des facteurs agro-climatiques et édaphiques à l'intérieur d'un génotype, on ne sait pas comment les différences de qualité de la feuille contribuent au développement des caractères du cocon chez le ver à soie. La quantité et la qualité de la nourriture consommée par les larves influencent leur performance, y compris leur taux de croissance, la durée

* Auteur auquel adresser la correspondance : Prof. Y. Srinivasa Reddy, #233, Vijayanagara III Stage, D Block, II Main, Mysore. 570 017, Karnataka, Inde.

du développement, le poids corporel final et la probabilité de survie (Murugan et George, 1992). Le degré d'assimilation de la nourriture et la qualité de la soie sécrétée diffèrent d'une race à l'autre, quand on les nourrit sur la même variété de mûrier (Hassanein et coll., 1972). D'une part, le potentiel génétique de la race et d'autre part, les facteurs environnementaux et nutritionnels contrôlent et déterminent les limites de la production de cocons. Il est donc important d'étudier les interactions entre la plante hôte, la lignée de ver à soie et l'environnement pour comprendre l'expression des gènes en termes quantitatifs par rapport à l'environnement. On a entrepris cette étude pour déterminer le rôle de la nutrition dans la réaction face aux conditions de stress de température élevée, dans les conditions climatiques tropicales indiennes, chez trois races sélectionnées du ver à soie, *Bombyx mori* en évaluant la manifestation des caractères économiques et nous présentons les résultats à la lumière des mécanismes physiologiques compensateurs observés chez les trois races, en réponse à des variations nutritionnelles et à une température ambiante élevée.

MATERIELS ET METHODES

On lève les pontes saines des trois races de vers à soie, c'est-à-dire PM, NB₄D₂ et CSR₂ et on élève les larves des trois races séparément sur des feuilles fraîches des trois variétés de mûrier, V-1, S-36 et M-5 en suivant la technique d'élevage standard (Dandin et coll., 2003). On réalise l'expérience en été (mars-avril) quand la température ambiante est de 30-35°C. Au début du 3^{ème} âge, on ne retient que 300 larves dans chaque répétition pour l'élevage ultérieur. On enregistre les observations sur les paramètres de croissance des larves, comme le poids larvaire, la durée larvaire, le poids de la glande séricigène, le taux effectif d'élevage, la productivité en termes de pourcentage de formation de cocons, la productivité en soie, le poids nymphal, le rendement estimé en cocons, la fécondité, le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse.

On calcule le rendement en cocons, l'indice de croissance, l'indice somatique de la glande séricigène, l'indice de conversion de la soie et la productivité en soie en utilisant les formules suivantes :

$$1) \text{ Rendement en cocons (kg / 100 pontes saines)} = \frac{\text{CYR} \times \text{EH} / 100 \times 40\,000}{\text{NLR}} \times 100$$

Où

CYR = Rendement en cocons par répétition

EH = Pourcentage d'éclosion des œufs

NLR = Nbre de larves par répétition

$$2) \text{ Productivité en soie} = \frac{\text{Poids de la coque (cg)}}{\text{Durée du 5ème âge larvaire}}$$

$$3) \text{ Indice somatique de la glande séricigène} = \frac{\text{Poids de la glande séricigène (g)}}{\text{Poids de la larve mûre (g)}} \times 100$$

$$4) \text{ Indice de conversion de la soie} = \frac{\text{Poids de la coque (g)}}{\text{Poids de la glande séricigène (g)}} \times 100$$

$$5) \text{ Indice de croissance} = \frac{N}{AV}$$

Où

N = Pourcentage de nymphose

AV = Durée larvaire en jours

On utilise l'analyse de variance pour tester la signification des différences de moyennes pour les caractères économiques des races de ver à soie élevées sur les variétés de mûrier, V-1, S-36 et M-5. On utilise les tests de comparaisons multiples de Tukey (1953) pour trouver la signification des différences entre les races et les variétés de mûrier. On considère les différences significatives à $P < 0,05$.

RESULTATS

Les résultats concernant les caractères économiques des races de ver à soie élevées sur les différentes variétés de mûrier sont présentés dans les Tableaux I à III.

Poids larvaire :

Le poids moyen des larves se nourrissant sur les feuilles de V-1 s'avère significativement plus élevé (4,32 g) que celui de celles qui se nourrissent sur les feuilles de S-36 (4,09 g) et de M-5 (2,97 g) (Tableau I). Parmi les races de vers à soie, on observe un poids de larve relativement plus élevé chez CSR₂ (4,40 g) suivie par NB₄D₂ (4,30 g) et par PM (2,69 g). On observe un poids de larve beaucoup plus élevé chez NB₄D₂ sur la variété V-1 (5,05 g) que sur S-36 (4,57 g) et sur M-5 (3,27 g) ; chez CSR₂ sur V-1 (5 g) que sur S-36 (4,89) et sur M-5 (3,32 g) et chez PM sur V-1 (2,93 g) que sur S-36 (2,81) et sur M-5 (2,33 g).

Poids de la glande séricigène :

Le poids moyen de la glande séricigène de toutes les races s'avère significativement plus élevé sur V-1 (1,36 g) que sur S-36 (1,21 g) et sur M-5 (1,0 g). CSR₂ présente un poids moyen de la glande séricigène relativement plus élevé (1,56 g) suivie par NB₄D₂ (1,30g) et par PM (0,71 g). On observe un poids de la glande séricigène significativement plus élevé chez CSR-2 sur V-1 (1,76 g) que sur S-36 (1,64 g) et sur M5 (1,27 g) ; chez NB₄D₂ sur V-1 (1,53 g) que sur S-36 (1,24 g) et sur M-5 (1,13 g) et chez PM sur V-1 (0,79 g) que sur S-36 (0,76g) et sur M-5 (0,60 g).

Durée larvaire :

Il n'y a pas de différence significative de la durée larvaire entre les larves se nourrissant sur V-1 (22,22 jours) et sur S-36 (22,22 jours), mais il ya un prolongement de la durée larvaire chez les larves se nourrissant sur M-5 (23,4 jours). PM présente une durée larvaire relativement plus longue (24,22 jours) que CSR₂ (21,92 jours) et NB₄D₂ (21,7 jours). On observe une baisse significative de la durée larvaire chez PM sur les variétés V-1 (23,5) et S-36 (23,5 jours), par comparaison à M-5 (25,5 jours). Cependant, chez les races bivoltines NB₄D₂ et CSR₂, on n'observe pas de différence significative de la durée larvaire sur V-1 (21,5 jours) et sur S-36 (21,5 jours), tandis que CSR₂ sur M-5 présente une durée larvaire relativement plus longue (22,6 jours) que NB₄D₂.

Taux de formation de cocons :

Le taux moyen de formation de cocons de toutes les races est relativement plus élevé sur V-1 (98,94 %) que sur S-36 (98,68 %) et sur M-5 (95,71 %). Les larves de PM présentent un taux de formation de cocons relativement plus élevé (98,72 %) que NB₄D₂ (97,78 %) et CSR₂ (96,83 %). On observe une augmentation significative du taux de formation de cocons chez PM sur les variétés S-36 (99,41 %) et V-1 (99,39 %) plus que sur M-5 (94,56 %), tandis que chez les races bivoltines, NB₄D₂ présente un taux de formation de cocons plus élevé sur V-1 (98,94 %) que sur S-36 (98,68 %) et sur M-5 (95,71 %) et CSR-2 sur V-1 (98,61 %) que sur S-36 (97,28 %) et sur M-5 (94,39 %).

Taux de nymphose :

Le taux moyen de nymphose de toutes les races est relativement plus élevé sur V-1 (98,37 %) que sur S-36 (98,01 %) et sur M-5 (91,90 %). PM présente un taux de nymphose moyen plus élevé (97,83 %) que NB₄D₂ (95,33 %) et CSR₂ (95,33 %). Parmi les races, le taux de nymphose chez PM

sur V-1 est de 98,71 %, tandis que sur S-36 et sur M-5, il est respectivement de 98,70 % et de 96,10 %. Entre les deux races bivoltines, le taux de nymphose de NB4D2 est de 98,2 % sur V-1, de 97,50 % sur S-36 et de 90,30 % sur M-5. CSR₂ présente aussi un taux de nymphose plus élevé sur V-1 (98,20 %) que sur S-36 (97,83 %) et sur M-5 (89,30 %).

Taux effectif d'élevage (ERR) :

L'ERR moyen de toutes les races est plus élevé sur V-1 (93,21 %) que sur S-36 (91,48 %) et sur M-5 (82,74 %). On observe le taux moyen d'ERR le plus élevé chez PM (92,23 %) suivie par NB4D2 (88,14 %) et par CSR₂ (87,56 %). On observe un ERR significativement plus élevé chez PM sur V-1 (94,32 %) et sur S-36 (94,13 %) plus que sur M-5 (88,23 %). Entre les deux races bivoltines, NB4D2 présente un ERR relativement plus élevé sur V-1 (93,25 %) que sur S-36 (90,84 %) et sur M-5 (80,32 %), tandis que CSR₂ présente un ERR de 92,26 % sur V-1, suivie par S-36 (90,77 %) et par M-5 (79,66 %).

Rendement en cocons :

Le rendement moyen en cocons le plus élevé (cocons recueillis en kg / 100 pontes saines) de toutes les races est relativement plus élevé sur V-1 (54,48), suivie par S-36 (51,43) et par M-5 (41,22). NB4D2 présente un rendement moyen en cocons relativement plus élevé (57,23) que CSR₂ (53,12) et PM (36,78). On observe une augmentation significative du rendement en cocons chez NB4D2 sur V-1 (66,65), suivie par S-36 (57,66) et par M-5 (47,38), tandis que chez CSR₂, on observe un rendement plus élevé en cocons sur V-1 (58,44) et sur S-36 (57,72) que sur M-5 (43,22). Cependant, chez PM on n'observe aucune différence significative de rendement en cocons entre V-1 (38,37) et S-36 (38,91), mais le rendement en cocons est plus faible sur M-5 (33,06).

Poids du cocon :

Le poids moyen du cocon de toutes les races est élevé chez les lots de larves nourris avec de la feuille de la variété V-1 (1,52 g), suivie par S36 (1,46 g) et par M-5 (1,30 g). NB4D2 présente un poids moyen de cocon relativement plus élevé (1,68 g) suivie par CSR₂ (1,57 g) et par PM (1,03g). On remarque une augmentation significative du poids du cocon chez NB4D2 sur V-1 (1,86g) suivie par S-36 (1,65g) et par M-5 (1,53g), tandis que chez CSR₂, on n'observe pas de différence significative pour le poids du cocon entre V-1 (1,65g) et S-36 (1,65g), mais le poids du cocon est plus faible sur M-5 (1,41 g). Chez PM, on observe un poids du cocon plus élevé sur S-36 (1,07g) que sur V-1 (1,06g) et sur M-5 (0,97 g).

Poids de la coque :

Le poids moyen de la coque de toutes les races est relativement plus élevé sur V-1 (0,30 g) que sur S-36 (0,27g) et sur M-5 (0,21 g). CSR₂ présente un poids moyen de coque relativement plus élevé que NB4D2 (0,35 g) et que PM (0,13g). On observe un poids de coque plus élevé chez CSR₂ sur V-1 (0,400 g) que sur S-36 (0,372 g) et sur M-5 (0,278) et chez NB4D2 sur V-1 (0,360g) que sur S-36 (0,311g) et sur M-5 (0,243 g). Chez PM, on observe aussi un poids de coque plus élevé sur V-1 (0,149 g) que sur S-36 (0,144 g) et sur M-5 (0,113g).

Richesse soyeuse :

La richesse soyeuse moyenne de toutes les races est relativement plus importante sur V-1 (19,20 %), suivie par S-36 (18,22 %) et par M-5 (15,68 %). CSR₂ présente une richesse soyeuse relativement plus élevée (22,13 %), suivie par NB4D2 (18,01 %) et par M-5 (12,97 %). On observe une augmentation significative de la richesse soyeuse chez CSR₂ sur V-1 (24,22 %), suivie par S-36 (22,42 %) et par M-5 (19,75 %). NB4D2 présente une richesse soyeuse relativement plus élevée sur V-1 (19,36 %) et sur S-36 (18,85 %), que sur M-5 (15,82 %). PM présente aussi une richesse soyeuse plus élevée sur V-1 (14,03 %), puis sur S-36 (13,41 %) et sur M-5 (11,49 %).

Poids nymphal :

Le poids nymphal moyen de toutes les races est relativement plus élevé sur V-1 (1,22g), suivie par S-36 (1,18g) et par M-5 (1,09g). NB4D2 présente un poids nymphal moyen relativement plus élevé (1,37g), suivie par CSR2 (1,22 g) et par PM (0,90g). Cependant, on observe une augmentation significative du poids nymphal de NB4D2 sur V-1 (1,50g), suivie par S-36 (1,34g) et par M-5 (1,29g). Le poids nymphal de CSR2 est relativement plus élevé sur S-36 (1,28g), suivie par V-1 (1,25g) et par M-5 (1,13g). Le poids nymphal de PM ne présente pas de différence significative entre V-1 (0,92 g) et S-36 (0,92g), mais est significativement moins important sur M-5 (0,86g).

Fécondité :

Le nombre moyen d'œufs chez toutes les races (exprimé comme le nombre d'œufs / ponte) est élevé avec V-1 (581), suivie par S-36 (546) et par M-5 (460). Le nombre moyen d'œufs pondus est relativement élevé chez NB4D2 (640), suivie par CSR2 (553) et par PM (412). Cependant, on observe une fécondité plus élevée chez NB4D2 sur V-1 (716) que sur S-36 (667) et sur M-5 (538) et la fécondité chez CSR2 est plus élevée sur V1 (591) que sur S-36 (554) et sur M-5 (462). Le polyvoltin PM présente aussi une fécondité plus élevée sur V-1 (437) suivie par S-36 (414) et par M-5 (381).

Indice de croissance :

Il n'y a pas de différence significative pour l'indice moyen de croissance de toutes les races entre V-1 (4,42) et S-36 (4,41), mais il y a une baisse de l'indice de croissance sur M-5 (3,92). Parmi les races, NB4D2 présente un indice de croissance relativement plus élevé (4,39), suivie par CSR2 (4,33) et par PM (4,03). Chez les races bivoltines, on n'observe pas de différence significative pour l'indice de croissance entre NB4D2 et CSR2 sur V-1 (4,56 ; 4,56) et sur S36 (4,53 ; 4,55), mais sur M-5 les indices de croissance de NB4D2 et de CSR2 sont respectivement de 4,10 et 3,95. Les indices de croissance de PM sont de 4,2 sur V-1 ; de 4,20 sur S-36 et de 3,76 sur M-5.

Productivité en soie :

La productivité moyenne en soie de toutes les races est plus importante sur V-1 (4,78 cg / jour) que sur S-36 (4,35cg / jour) et sur M-5 (2,75 cg / jour). CSR2 présente une productivité moyenne en soie relativement plus élevée que NB4D2 (4,59 cg / jour) et que PM (1,90 cg / jour). On remarque une augmentation relativement plus élevée de la productivité en soie de CSR2 sur V-1 (6,52 cg / jour) que sur S-36 (6,08 cg / jour) et sur M-5 (3,54 cg / jour). NB4D2 présente plus de productivité en soie sur V-1 (5,64 cg / jour) que sur S-36 (4,86 cg / jour) et que sur M-5 (3,29 cg / jour). Chez PM, on observe une augmentation significative de la productivité en soie sur V-1 (2,18 cg / jour), suivie par S-36 (2,10 cg / jour) et par M-5 (1,43 cg / jour).

Indice somatique de la glande séricigène :

L'indice somatique moyen de la glande séricigène des races est relativement plus élevé sur M5 (33,67 %) que sur V-1 (31,48 %) et sur S-36 (29,58 %). Parmi les races, CSR2 présente un indice somatique moyen de la glande séricigène relativement plus élevé (35,45), suivie par NB4D2 (30,23 %) et par PM (26,39 %). On observe un indice somatique de la glande séricigène significativement plus élevé chez CSR2 sur M-5 (38,25 %), que sur V1 (35,20 %) et sur S-36 (33,54 %) et chez NB4D2 sur M-5 (34,56 %) plus que sur V-1 (30,30 %) et sur S-36 (27,13 %). Chez PM, on observe un indice somatique de la glande séricigène plus élevé sur S-36 (27,05 %) que sur V-1 (26,96 %) et sur M-5 (25,75 %).

Indice de conversion de la soie :

L'indice moyen de conversion de la soie des races est relativement plus élevé sur S-36 (22,31 %) que sur V-1 (22,06 %) et sur M-5 (21 %). Les larves de NB4D2 présentent un indice moyen de conversion de la soie relativement plus élevé (23,08 %), que celles de CSR2 (22,44 %) et de PM (18,31 %). On remarque un indice de conversion de la soie significativement plus élevé chez NB4D2

sur S-36 (25,08 %) , que sur V-1 (23,53 %) et sur M-5 (21,50 %). Les indices de conversion de la soie chez CSR₂ sont de 22,73 % sur V-1, de 22,68 % sur S-36 et de 21,89 % sur M-5. Chez PM, les différences pour l'indice de conversion de la soie sur S-36 (18,95 %), sur V-1 (18,86 %) et sur M-5 (18,83 %) ne sont pas significatives, sur le plan statistique.

DISCUSSION

La production industrielle de cocons chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. dépend d'un certain nombre de facteurs externes et internes. La qualité de la feuille de mûrier et l'environnement sont les principaux facteurs externes qui influencent la production de cocons de respectivement 38,2 % et 37 % (Miyashita, 1986). La qualité de la feuille de mûrier est elle-même influencée par un certain nombre de facteurs comme la variété de mûrier et les conditions agroclimatiques (Patil, 2001). Les facteurs internes qui influencent la production de cocons sont le potentiel de la lignée (4,2 %) et la qualité de la graine (3,1 %). Les chiffres fournis sont des estimations brutes et il n'existe pas d'études sur l'origine physiologique de l'expression manifeste des caractères économiques, en réponse à la nutrition et à l'environnement chez le ver à soie mûrier. Les variétés de mûrier utilisées dans cette étude sont connues pour leurs caractères uniques. M5, une variété de mûrier populaire indigène est relativement pauvre en humidité et a une mauvaise valeur nutritive par comparaison aux deux autres variétés. Les feuilles de la variété de mûrier S-36 sont succulentes et ont une teneur en eau relativement élevée, tandis que celles de V-1 sont brillantes et ont une teneur en eau et une valeur nutritive élevées. Les trois races, c'est-à-dire PM, NB₄D₂ et CRS₂ répondent différemment à l'alimentation avec les feuilles des trois variétés de mûrier de par leur croissance, leur développement larvaire et leur production de cocons. On a évalué l'amélioration des caractères économiques des trois races avec les deux variétés de mûrier supérieures, c'est à dire S-36 et V-1 en utilisant M-5 comme valeur de base. L'amélioration du poids de la larve mûre est de 20 à 25 % chez PM, tandis qu'elle est de 40 à 54 % chez les deux races bivoltines (Tableau I). Le potentiel génétique des groupes bivoltins limite la croissance larvaire maximum, malgré l'alimentation sur de la feuille de bonne qualité. La croissance larvaire est relativement élevée avec V-1 chez les trois races, en raison de sa supériorité nutritionnelle, de sa teneur élevée en eau et de son importante capacité de rétention de l'eau. La durée larvaire baisse aussi lors de l'alimentation avec les variétés S-36 et V-1, puisque la croissance maximum est atteinte plus tôt chez les trois races, grâce à l'alimentation avec les feuilles relativement plus nutritives de V-1 et de S-36 (Tableau I) et à un taux métabolique plus élevé avec une température ambiante plus élevée. La durée de chaque âge larvaire est cependant un caractère génétique flexible, dans certaines limites, pour chaque âge. La durée réelle de l'âge dépend du gain de poids atteint à la fin de la phase de croissance de l'âge. Chaque âge est marqué par une limite minimale et maximale de gain de poids avant de passer à l'âge suivant. La durée de l'âge se prolonge si le poids minimal pour l'âge n'est pas atteint et la durée diminue quand le poids maximum est atteint plus tôt, grâce à un taux de croissance plus élevé pendant l'âge. Les changements de durée de chaque âge se produisent dans les limites permises de quelques heures et si les limites minimales obligatoires de croissance larvaire ne sont pas atteintes à la fin de la phase de croissance, des mues surnuméraires se produisent chez certains insectes pour palier le manque d'accumulation de biomasse avant la nymphose (Wigglesworth, 1972). Quand le ver à soie du mûrier est sous-alimenté, il devient faible et n'arrive pas à croître en taille. On pourrait attribuer la différence de durée larvaire chez les trois races avec M-5, S-36 et V-1 aux variations de la qualité nutritionnelle des feuilles des trois variétés de mûrier. On cultive les trois variétés de mûrier dans des conditions d'irrigation en observant l'ensemble des pratiques recommandées et on peut donc escompter la meilleure qualité de feuille pour la variété et pour la saison. PM, qui est polyvoltine a un taux de croissance relativement plus lent et une durée d'alimentation plus longue et elle compense son taux métabolique dans une certaine mesure, même dans des conditions hostiles. Geetha (1983) a signalé une durée larvaire de 29,8 jours et de 26,2 jours dans des conditions sans irrigation, sans aucun apport d'engrais, contre 25,5 et 22 jours dans des conditions d'irrigation en recevant les doses recommandées d'engrais respectivement chez PM et NB₄D₂ sur des feuilles de la variété M-5. On

pourrait attribuer la durée larvaire relativement plus longue de PM à des taux de croissance plus faibles que ceux des larves bivoltines. Haniffa et coll., (1994) ont observé un prolongement de la durée larvaire pendant chaque âge quand le nombre de repas passe de 8 à 2. Les résultats pour le poids de la larve mure corroborent aussi ces observations sur la durée larvaire. Le poids de la larve mure avec la variété M5 est significativement moins important chez les trois races, par comparaison aux poids larvaires sur les feuilles des variétés S-36 et V-1 (Tableau I). Une augmentation de la durée larvaire lors de l'alimentation avec de la feuille de M-5 est un signe de feuille de mauvaise qualité, qui ne soutient pas le taux nécessaire de croissance de chaque âge pendant le développement larvaire. Les durées larvaires sont différentes chez la même race pendant les différentes saisons et quand on la nourrit sur des variétés de mûrier différentes (Muthukrishnan et Delvi, 1974 ; Mathawan et Muthukrishnan, 1976 ; Haniffa et Periasamy, 1981).

L'ERR et le rendement en cocons en nombre sont des caractères corrélés. L'ERR est plus élevé chez la variété indigène polyvoltine PM que chez les variétés bivoltines productives (Tableau I). L'ERR est relativement moins important avec la variété M-5 chez les trois races, ce qui suggère que la nutrition joue un rôle significatif dans la survie dans des conditions climatiques hostiles. La température ambiante plus élevée de la pièce en été (quand l'élevage a lieu) a un effet néfaste sur le développement normal du ver à soie. La meilleure nutrition avec S-36 et V-1 minimise l'influence néfaste des températures ambiantes élevées, même chez une race tolérant la température comme PM. Le rôle de la nutrition dans la tolérance à la température se manifeste mieux chez les races bivoltines et est plus significatif chez une race à rendement élevé et sensible à la température comme CSR₂, avec un ERR de 79,6 % sur M-5, de 90,77 % et de 92,26 % respectivement sur S-36 et V-1. Un certain nombre de lignées de ver à soie bivoltines tolérant la température ont été mises au point pour l'élevage pendant les conditions climatiques hostiles de la saison de l'été tropicale (Naseema Begum et coll., 2001). Une feuille de mûrier avec une valeur nutritive élevée est une condition nécessaire pour une récolte de cocons réussie, malgré le potentiel des lignées thermotolérantes chez ces races.

Le rendement en cocons (kg / 100 pontes saines) et le poids du cocon chez les trois races sélectionnées présentent aussi une différence significative avec les feuilles des trois variétés. Le rendement en cocons et le poids du cocon sont plus élevés chez les lots nourris avec des variétés de mûrier supérieures comme V-1 et S-36 par comparaison à M-5, ce qui montre donc que la capacité de survie et la production de cocons dépendent beaucoup du soutien nutritionnel. Mais, le poids de la coque et la richesse soyeuse sont plus élevés chez CSR₂ sur V1. Les deux caractères corrélés dépendent de l'activité des gènes liés au développement de la glande séricigène et à la biosynthèse de la protéine de la soie. La glande séricigène forme un organe important chez le ver à soie. Elle constitue en gros 40 % du poids corporel de la larve. Le poids de la glande séricigène chez les larves mûres est un caractère racial, mais il varie à l'intérieur de la race avec les différentes variétés de mûrier (Tableau III), ce qui suggère le rôle de la nutrition dans l'expression des gènes. La croissance de la glande séricigène est marquée par l'accumulation de composés organiques, en particulier les protéines pendant la durée de la croissance larvaire (Ito, 1967 ; Tazima, 1978). Le poids de la glande séricigène, le poids de la coque et la richesse soyeuse sont relativement plus importants chez CSR₂ que chez NB4D₂, malgré le poids plus élevé du cocon de NB4D₂. Singh et Vineet Kumar (1996) ont signalé une corrélation positive très significative de (0,951) entre le poids de la glande séricigène et le poids de la coque. Les résultats indiquent une nette différence dans la manière dont la biomasse est utilisée par les deux races pendant le 5^{ème} âge pour la production de cocons et pour la production d'œufs. Dans le cas de CSR₂, le caractère génétique contrôlant la fécondité limite le nombre d'œufs à moins de 600. L'azote de l'acide aminé est utilisé de préférence pour la biosynthèse de la soie, ce qui permet d'atteindre un poids de coque plus élevé et une richesse soyeuse de plus de 24 % (Tableau II). Dans le cas de NB4D₂, où le caractère génétique contrôlant la fécondité dépasse 600 et atteint jusqu'à 700 (Tableau II) et où la richesse soyeuse est de moins de 20 %, les protéines ou l'azote de l'acide aminé supplémentaires des variétés V-1 et S-36 riches en protéines favorisent la vitellogénèse. Les tissus du corps gras du ver à soie ont une activité transaminase élevée et peuvent donc générer des acides aminés non essentiels comme la glycine, la sérine et l'alanine et les ketoacides nécessaires en grande quantité

pour la synthèse des protéines de la soie et de la vitelline à partir du stock d'acides aminés. Horie (1999) a signalé l'utilisation des acides aminés, après la désamination, pour la biosynthèse des acides gras chez différentes races du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori*.

Gokulamma (2006) a signalé des niveaux plus élevés d'aspartate aminotransférase et d'alanine aminotransférase chez CSR5 et NB4D2 que chez PM. Haniffa et coll., (1994) ont observé une corrélation positive entre l'absorption de nutriments et la production d'œufs. Leurs études sur la limitation de la nourriture (diminution du nombre de repas) ont montré que le nombre d'œufs pondus baisse, lorsque le nombre de repas diminue chez le ver à soie, *Bombyx mori*. La capacité à utiliser les protéines et les acides aminés dans la biosynthèse des acides gras apparaît être plus importante chez les races présentant des niveaux de fécondité plus élevés. Dans le programme de lignage de vers à soie bivoltins, il vaut donc mieux que la procédure de sélection s'applique à une fécondité inférieure, si l'on veut obtenir une meilleure manifestation des gènes qui contrôlent la productivité en soie. La productivité en soie est relativement meilleure chez CSR2 que chez NB4D2 (Tableau II) avec V-1 et S-36.

L'indice somatique de la glande séricigène (SSI) représente la biomasse de la glande séricigène rapportée au poids total du corps. Chez toutes les races, cette valeur est relativement plus élevée avec M-5, suivie par V-1 et par S-36 (Tableau III). Les indices somatiques de la glande séricigène des deux races bivoltines sont plus faibles lorsqu'elles se nourrissent sur V-1 et sur S-36 que sur M-5. Les races bivoltines surtout celles d'origine tempérée ont une tendance plus grande à canaliser leurs ressources vers la production du cocon, même dans des conditions de stress nutritionnel. On a mis au point CSR2 par croisement entre deux parents japonais (Shurei × Shogetsu). Tazima (1978) a signalé que la glande séricigène contribue au corps de la larve à 40 %. La teneur élevée en soie du cocon bivoltin protège les chrysalides des températures très basses qui prédominent dans les climats tempérés. NB4D2 est un bivoltin mis au point et acclimaté aux climats tropicaux Indiens. Un cocon moins résistant permet un meilleur échange des gaz à travers les coupes transversales de la coque et apporte donc plus d'oxygène pour soutenir le taux de métabolisme relativement plus élevé des chrysalides. Singh et Vineet Kumar (1996) ont signalé un indice somatique de la glande séricigène de 27,9 % chez NB18, une race bivoltine adaptée aux tropiques. L'indice de conversion de la soie (SCI) est le rapport entre le poids de la coque et le poids de la glande séricigène. Les valeurs SCI sont plus faibles pour CSR2 que pour NB4D2 (Tableau III). Ainsi la glande séricigène de NB4D2, bien qu'elle ait une teneur en soie relativement plus élevée dans la lumière de la glande séricigène file moins de fibre en poids que CSR2. Une différence qualitative de la soie stockée dans la lumière de la glande séricigène de NB4D2 et de CSR2 est apparente. La soie biosynthétisée et stockée dans la lumière de la glande séricigène de NB4D2 apparaît plus hydratée et perd plus d'eau quand la soie liquide est énergiquement expulsée par la filière.

L'indice de croissance est le ratio entre la nymphose (%) et la durée larvaire. L'indice de croissance moyen est plus faible sur la variété M-5 (Tableau III) en raison de la mortalité nymphale plus élevée et de la plus longue durée larvaire. L'indice moyen de croissance plus élevé de NB4D2 est dû au taux de survie relativement plus élevé avec les trois variétés de mûrier, tandis que CSR2 bien qu'elle ait la même performance avec V-1 et avec S-36 présente un indice de croissance significativement plus bas avec M5, en raison de la mortalité nymphale plus élevée des larves CSR2 lorsqu'elles se nourrissent sur des feuilles de M-5 (Tableau I). On attribue le faible indice de croissance de PM, malgré le meilleur taux de nymphose (Tableau I) à une durée larvaire plus longue, qui est un caractère génétique de la race PM.

SECONDARY PLANT NUTRIENTS UPTAKE IN MULBERRY UNDER IRRIGATED CONDITION

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

Karnataka State Sericulture Research & Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore – 560 062, India.

A field study was conducted at Karnataka State Sericulture Research and Development Institute with M5, S36 and DD (Vishwa) mulberry varieties under two plant spacing and two fertilizer doses. Observations on five harvests of mulberry over one year were recorded as pooled data. Among the three varieties grown, maximum yield was recorded in S36 variety followed by Vishwa variety and maximum yield was recorded in closer spacing compared to wider spacing. Shoot yield was ranging from 61382 to 101229 kg/ha/yr. Leaf yield was ranging from 35147 to 58200 kg/ha/yr and stem yield was ranging from 25897 to 43293 kg/ha/yr. The leaf calcium, magnesium and sulphur contents varied from 1.87 to 2.13, 1.09 to 1.26 and 0.14 to 0.16% respectively and the stem calcium, magnesium and sulphur contents varied from 0.67 to 0.80, 0.53 to 0.64 and 0.05 to 0.08% respectively. In mulberry uptake of calcium, magnesium and sulphur through leaf was ranging from 202 to 295, 103 to 168 and 14 to 22 kg/ha/yr respectively and through stem was ranging from 40 to 71, 29 to 60 and 4 to 8 kg/ha/yr respectively. In the present study significant difference in the leaf yield, stem yield, calcium uptake, magnesium uptake and sulphur uptake among varieties and spacing recorded suggest for variety related specification and also taking into consideration biomass production in shoot harvest method for the application of fertilizer for optimizing the yield and quality of mulberry.

Keywords: Calcium, magnesium, mulberry, nutrient uptake, spacing, sulphur, variety.

INTRODUCTION

Plant nutrients are very essential for the optimum growth of a plant. Sixteen elements have been considered as essential plant nutrients and these nutrients have been classified into primary, secondary and tertiary plant nutrients. Secondary plant nutrients are calcium, magnesium and sulphur. Calcium a part of the structure of cell wall and membrane is involved in root elongation, cell division, growth and activation of enzymes. Magnesium is a constituent of chlorophyll molecule which plays an important role in photosynthesis. Sulphur is essential for protein synthesis (Tandon, 1991). Nutrient supplementation to the soil either through organic, inorganic or biofertilizer has become an integral part of agricultural production strategies. So far application of secondary plant nutrients has not been recommended for mulberry. Mulberry being a deep rooted and high biomass producing plant, yields about 25-30 tones of leaves /ha/yr under normal package of practices and produces about 40 – 60 tones of leaves /ha/yr with high yielding varieties. In shoot harvest method, where whole plant is harvested at every crop 60 – 90 tonnes of shoot is being harvested /ha/yr. In India most of the works on fertilizer about mulberry did not take cognizance of the NPK uptake by the plant while determining the optimum dosages for leaf quality and yield (Purohit and Pavankumar, 1996). It has been emphasized long back that as a principle of arable farming what is taken from the soil must be returned to it in full measure (Liebig, 1841). This necessitates total crop specific studies on nutrient budgeting

* Address for correspondence

to facilitate sustainable cultivation of crop species. Since continuous cropping results in nutrient losses, additional fertilizer application to the soil is an important agronomical practice. Systematic studies on the amount of nutrients removal and actual requirement of nutrients for the cultivation of mulberry are needed. Keeping this in view, a field study was conducted for nutrient budgeting in mulberry.

MATERIAL AND METHODS

A field study was conducted in a newly established mulberry garden at the campus of Karnataka State Sericulture Research & Development Institute of Bangalore during 1997–2004 under irrigated condition. The soil was sandy loam type with pH 7.8. Cultural practices were attended as per the package of practices recommended (Jolly, 1987) for mulberry under irrigated condition with the supplementation of NPK at 300:120:120 kg/ha/yr and 400:120:120 kg/ha/yr with modification in respect of phosphorus and potassium which were applied in five equal split doses. The NPK was applied in the form of complex fertilizer (15:15:15) and differential amount of nitrogen was applied in the form of urea. In addition first dose of Farmyard manure (FYM) at 10 ton/ha was applied in first crop and second dose of 10 ton/ha was applied in third crop soon after the second crop harvest. FYM was applied in between the mulberry rows after making small trenches in each microplot and covered with soil. Chemical fertilizers were applied in third week after bottom pruning after irrigation to the mulberry garden and applied in between rows and covered with soil immediately. The mulberry garden was irrigated once per week during non - rainy period. The experiment was laid out in a split plot design with six main treatments and two sub treatments and three replications. The experimental microplot size was 7.2 × 7.2 m with the population of 144 plants/microplot in 60 × 60 cm plant spacing and 64 plants/microplot in 90 × 90 cm plant spacing. Totally, there were 36 microplots covering three mulberry varieties (M5, S36 and Vishwa) with two spacing (60 × 60 cm and 90 × 90 cm) and two fertilizer doses (300:120:120 and 400:120:120 kg NPK/ha/yr. Treatments combinations were as follows;

Main treatments:

- T1 = M5 variety with 60 × 60 cm plant spacing
- T2 = M5 variety with 90 × 90 cm plant spacing
- T3 = S36 variety with 60 × 60 cm plant spacing
- T4 = S36 variety with 90 × 90 cm plant spacing
- T5 = Vishwa variety with 60 × 60 cm plant spacing
- T6 = Vishwa variety with 90 × 90 cm in plant spacing

Sub treatments:

- F1 = 300:120:120 kg NPK/ha/yr
- F2 = 400:120:120 kg NPK/ha/yr

Observations were recorded at 70–75 days of growth and shoot harvest method was followed for the five harvests covering one annual crop cycle. Shoot yield assessment was done by harvesting all the plants of the micro plot and computed into yield as kg/ha. Leaf and stem samples were collected from each micro plot and moisture contents were recorded. The samples were air dried first and then oven dried at 70 °C and powdered. The calcium, magnesium and sulphur content in the leaves and stems were estimated following the method suggested by Jackson (1973). Based on the leaf and stem calcium, magnesium and sulphur content the amounts of calcium, magnesium and sulphur removed under different treatments were calculated on dry matter basis.

RESULTS

Shoot, leaf and stem yield:

Shoot, leaf and stem yields differed significantly due to main treatment effect (Table I).

Table. I. Effect of variety, spacing and fertilizer on shoot, leaf and stem yield (kg/ha/yr).

Tableau I. Effet de la variété, de l'espacement et de l'engrais sur le rendement en pousses, en feuilles et en tiges (kg / ha / an).

Treatments	Shoot Yield/ha/yr	Leaf yield/ha/yr	Stem yield/ha/yr
Traitements	Rendement en pousses / ha / an	Rendement en feuilles / ha / an	Rendement en tiges / ha / an
Main treatment / Traitement principal			
T1	83,559	48,404	35,153
T2	64,632	37,053	27,411
T3	96,938	56,397	40,539
T4	72,997	43,116	29,828
T5	94,473	54,141	40,332
T6	80,100	45,834	34,254
F-Test	*	*	*
CD 5%	1485	940	1087
Sub treatment / Sous-traitement			
F1	76,658	44,800	31,800
F2	87,575	50,199	37,371
F-Test	*	*	*
CD 5%	701	502	507
Interaction			
T1 × F1	77,222	45,218	32,003
T1 × F2	89,898	51,591	38,306
T2 × F1	61,382	35,147	25,897
T2 × F2	67,886	38,962	28,923
T3 × F1	92,650	54,596	38,052
T3 × F2	1,01,229	58,200	43,026
T4 × F1	65,866	39,704	26,161
T4 × F2	80,125	46,632	33,494
T5 × F1	88,498	51,129	37,372
T5 × F2	1,00,447	57,151	43,293
T6 × F1	74,335	43,011	31,322
T6 × F2	85,867	48,656	37,188
F-Test	*	*	*
CD 5% (F1)	1717	1230	1242
CD 5% (F2)	1918	1280	1397

Table II. Effect of variety, spacing and fertilizer on leaf and stem calcium, magnesium and sulphur.

Tableau II. Effet de la variété, de l'espacement et de l'engrais sur le calcium, le magnésium et le soufre de la feuille et de la tige.

Treatments	Leaf / Feuille			Stem / Tige		
Traitements	Ca%	Mg%	S%	Ca%	Mg%	S%
Main treatment / Traitement principal						
T1	2.09	1.19	0.15	0.77	0.60	0.08
T2	2.01	1.12	0.15	0.76	0.58	0.07
T3	2.08	1.12	0.14	0.72	0.60	0.06
T4	2.09	1.20	0.14	0.72	0.54	0.06
T5	1.94	1.19	0.16	0.69	0.61	0.07
T6	1.90	1.23	0.15	0.77	0.59	0.06
F-Test	*	NS	NS	NS	NS	*
CD 5%	0.12	—	—	—	—	0.01
Sub treatment / Sous-traitement						
F1	2.04	1.17	0.15	0.73	0.59	0.07
F2	2.00	1.17	0.15	0.74	0.58	0.07
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD 5%	—	—	—	—	—	—
Interaction						
T1 × F1	2.06	1.19	0.15	0.77	0.58	0.08
T1 × F2	2.12	1.19	0.15	0.76	0.61	0.08
T2 × F1	2.03	1.14	0.15	0.77	0.58	0.07
T2 × F2	1.98	1.09	0.15	0.75	0.59	0.07
T3 × F1	2.13	1.11	0.14	0.73	0.62	0.06
T3 × F2	2.03	1.13	0.15	0.71	0.58	0.07
T4 × F1	2.09	1.19	0.14	0.72	0.53	0.07
T4 × F2	2.09	1.20	0.15	0.72	0.56	0.06
T5 × F1	2.01	1.15	0.16	0.67	0.59	0.07
T5 × F2	1.88	1.23	0.16	0.70	0.63	0.08
T6 × F1	1.93	1.26	0.15	0.74	0.64	0.05
T6 × F2	1.87	1.20	0.15	0.80	0.53	0.06
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD 5% (F1) -	-	-	-	-	-	-
(F2) -	-	-	-	-	-	-

Maximum yield was recorded in closer spacing compared to wider spacing. Among the varieties grown maximum yield was recorded in S36 variety followed by Vishwa variety. Shoot yield was ranging from 61382 (T2) to 101229 kg/ha/yr (T3). Leaf yield was ranging from 35147 (T2) to 58200 (T3) kg/ha/yr and stem yield was ranging from 25897 (T2) to 43293 kg/ha/yr (T3). Shoot, leaf and stem yield differed significantly due to sub treatment effect. Maximum yield was recorded in F1 compared to F2 treatment. Significant differences due to interaction effect were also observed among the treatments. Maximum shoot and leaf yield (1,01,229 and 58,200 kg/ha/yr respectively) were recorded with the treatment combination of S36 variety with 60 × 60 cm plant spacing and

400:120:120 kg NPK/ha/yr followed by Vishwa variety (1,00,447 and 57,151 kg/ha/yr respectively) with same spacing and fertilizer dose.

Table III. Effect of variety, spacing and fertilizer on nutrient uptake through leaf and stem (kg/ha/yr).

Tableau III. Effet de la variété, de l'espacement et de l'engrais sur l'absorption de nutriments par la feuille et par la tige (kg / ha / an).

Treatments	Through Leaf			Through stem		
	Calcium uptake	Magnesium uptake	Sulphur uptake	Calcium uptake	Magnesium uptake	Sulphur uptake
	<i>Par la feuille</i>			<i>Par la tige</i>		
<i>Traitements</i>	<i>Absorption de calcium</i>	<i>Absorption de magnésium</i>	<i>Absorption de soufre</i>	<i>Absorption de calcium</i>	<i>Absorption de magnésium</i>	<i>Absorption de soufre</i>
Main treatment / <i>Traitement principal</i>						
T1	259	145	19	62	46	6
T2	208	107	14	49	38	4
T3	289	151	20	58	47	5
T4	232	129	15	45	34	4
T5	258	155	21	64	54	7
T6	219	138	17	63	46	4
F-Test	*	*	*	*	*	*
CD 5%	23.60	12.35	2.48	6.25	6.10	0.84
Sub treatment / <i>Sous-traitement</i>						
F1	237	130	17	52.58	42	5
F2	252	145	19	62.05	47	6
F-Test	*	*	*	*	*	*
CD 5%	9.50	8.60	1.00	2.55	3.35	0.39
Interaction						
T1 × F1	241	136	18	56	41	5
T1 × F2	277	154	20	67	51	7
T2 × F1	202	103	14	49	36	4
T2 × F2	214	111	15	50	41	4
T3 × F1	295	146	19	54	48	4
T3 × F2	283	156	21	62	47	6
T4 × F1	221	122	14	40	29	4
T4 × F2	243	135	17	50	39	4
T5 × F1	250	142	19	58	48	6
T5 × F2	266	168	22	71	60	8
T6 × F1	212	132	16	56	49	4
T6 × F2	227	144	18	70	44	5
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CD 5% (F1) —	—	—	—	—	—	—
(F2) —	—	—	—	—	—	—

Calcium, Magnesium and Sulphur content in the leaf and stem:

Calcium content in the mulberry leaf differed significantly due to main treatment effect and did not differ significantly due to sub treatment and interaction effect (Table II). However, calcium content ranged from 1.87 to 2.13% in leaf. Calcium content in mulberry stem did not differ significantly due to main treatment effect, sub treatment effect and interaction effect. Calcium content in stem ranged from 0.67 to 0.80%.

Magnesium content in mulberry leaf and stem did not differ significantly. However, magnesium content in mulberry leaf and stem ranged from 1.09 to 1.26 and 0.53 to 0.64% respectively.

Sulphur content in mulberry leaf did not differ significantly due to main, sub and interaction effect. However sulphur content in mulberry leaf was ranged from 0.14 to 0.16 %. Sulphur content in stem differed significantly due to main treatment effect and did not differ significantly due to sub and interaction effect. Sulphur content in mulberry stem was ranged from 0.05 to 0.08%

Calcium, magnesium and sulphur uptake through leaf and stem:

Calcium uptake through leaf and stem was differed significantly due to main and sub treatment effect and did not differ significantly due to interaction effect. Calcium uptake through leaf was maximum in T3 (289 kg/ha/yr) and minimum in T2 (208 kg/ha/yr). Calcium uptake through stem was maximum in T5 (64 kg/ha/yr) and minimum in T4 (45 kg/ha/yr). However, calcium uptake through leaf and stem was ranging from 202 to 295 and 40 to 71 kg/ha/yr.

Magnesium uptake through leaf and stem differed significantly due to main and sub treatment effect and did not differ significantly due to interaction effect. Magnesium uptake through leaf and stem was ranging from 103 to 168 and 29 to 60 kg/ha/yr.

Sulphur uptake through leaf and stem differed significantly due to main and sub treatment effect and did not differ significantly due to interaction effect. Sulphur uptake through leaf was maximum in T5 (21 kg/ha/yr) and minimum in T2 (14 kg/ha/yr). Sulphur uptake through stem was maximum in T5 (7 kg/ha/yr) and minimum in T2, T4 and T6 (4 kg/ha/yr). However, sulphur uptake through leaf and stem was ranging from 14 to 22 and 4 to 8 kg/ha/yr.

DISCUSSION

Maximum shoot and leaf yields were recorded in T3 with the variety S36 which performed comparatively better. The variety DD (Vishwa) also performed better and was on par with the S36 mulberry variety. It is proved that, high fertilizer input increases the leaf and shoot yield. Rajanna and Dandin (1994) observed significantly higher yield in 450 kg N input level compared to 300 kg N input level. Ghosh *et al.*, (1997) reported that the S36 was superior in terms of higher leaf yield. Ravikumar *et al.*, (1991) reported that the DD (Vishwa) variety performed better over other indigenous mulberry varieties. When compared among the spacing more yield was observed in closer spacing (60 × 60 cm). On the base of the present study it is concluded that, among different treatment combinations higher values of leaf yield and shoot yield were recorded in S36 variety at the plant spacing of 60 × 60 cm with the fertilizer dose of 400:120:120 kg NPK/ha/yr. Much difference was not observed due to the effect of variety, spacing and fertilizer on leaf and stems calcium, magnesium and sulphur content. Observation on the calcium, magnesium and sulphur content in mulberry leaf and stem are in accordance with the observation of Puttaswamy (1993), Joseph (1991), Shankar (1997), Sannappa (2001).

Nutrient uptake refers to the total amount of nutrients taken up or absorbed by a crop during the period it is in the field. The extent of nutrient removal from the soil depends on the plant parts which are harvested and their composition (Tandon, 1994). In the present study whole shoot harvest method was followed for every crop. Shoot harvest method is becoming popular nowadays. In this method silkworm utilizes only leaf and stem portion become waste and it is unavoidable. This shoot harvest method leads to quick depletion of soil nutrients in the mulberry garden. Application of calcium, magnesium and sulphur containing fertilizers has not so far been covered under the package of

practices for mulberry cultivation (Jolly, 1987). Good cocoon yield is known to be mainly influenced by the nutrient status of the mulberry leaf which in turn depends on the cultivation practices followed in respect of agronomic inputs (Bongale and Chaluvachari, 1993). It is interesting to note that a 34% increase in leaf yield was observed when calcium ammonium nitrate (CAN) was used and also improvement in leaf yield, leaf quality, cocoon weight, shell weight, pupa weight and filament length of cocoons were significantly higher when CAN was the source of nitrogen to the plants. (Subbarayappa, 1988)

Based on the present observation it is concluded that removal of calcium through mulberry leaf and stem ranges from 202 to 295 and 40 to 71 kg/ha/yr respectively. Removal of magnesium through mulberry leaf and stem was ranged from 103 to 168 and 29 to 60 kg/ha/yr respectively and removal of sulphur through mulberry leaf and stem was ranged from 14 to 22 and 4 to 8 kg/ha/yr respectively. If the removal of calcium, magnesium and sulphur goes at this rate quick depletion of plant nutrients in the soil may occur. Due to intensive cultivation, in addition to NPK, supply of Ca, Mg and S should also be given importance in nutrition of mulberry to obtain maximum quality leaf as it is a perennial crop yielding good returns to farmers throughout the year in tropical countries (Shankar, 1990). Hence systematic budgeting in respect of Ca, Mg and S removal and supplementation in mulberry cultivation is suggested.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the colleagues for their help and the Institute for providing the facilities.

REFERENCES

- BONGALE U.D. (1994) Fertilizers in mulberry cultivation. Pushpaseri publ., Thalaghattapura, Bangalore, p. 140.
- BONGALE U.D. (2000) Productivity alleviation in mulberry cultivation – An appraisal. Lead paper in *Nati. Conf. Strat. Seric. Res and Devnt.*, 16-18 Nov, CSR&TI, Mysore, pp. 34-37.
- BONGALE U. D. and Chaluvachari (1993) Evaluation of four mulberry varieties by leaf biochemical analysis and bioassay with *Bombyx mori* L. *J. Indian Bot. soc.* 27: 59-62.
- BONGALE U.D., Narayanagowda, S.N. and Veeresh, M. (2000) Effect of different plant densities and nitrogen levels on Vishwa (DD), S36 and M5 mulberry (*Morus indica* L.) varieties under irrigated condition. *Indian J. Seric.*, 39 (2): 103-107.
- GHOSH A., Ambika, P.K. and Mishra, R.K. (1997) Effect of varieties, spacing and fertilizer doses on growth, yield and quality of mulberry. *Indian J. Seric.* 36 (2) : 138-141.
- JACKSON M.L. (1973) Soil and chemical analysis. Prentice Hall of India Pvt. Ltd. New Delhi, p. 497.
- JOLLY M.S. (1987) Appropriate sericulture techniques. CSR&TI, Mysore. P. 172.
- JOSEPH L.M. (1991) Role of potash on the yield and quality of mulberry leaf and its effect on silkworm growth and cocoon production. M. Sc. (Seri Thesis, UAS, Bangalore, p. 135.)
- LIEBIG J. (1841) The organic chemistry and its application on agriculture and physiology. Verlag Viehweg. Braunschweig. P. 167.
- MENGEL K. & Kirkby, E.A. (1987) *Principles of Plant Nutrition* 4th Ed. International Potash Institute, Bern, Switzerland. P. 687.
- PUROHIT K.M. & Pagan Kumar, T. (1996) Influence of various agronomical practices in India on the leaf quality in mulberry – A review. *Sericologia*, 36 (1) : 27 – 39.
- PUTTASWAMY B. (1993) Influence of graded level of potassium on yield and quality of mulberry. UAS, Bangalore. P. 166. (Project Report).
- RAJANNA L. & Dandin, S.B. (1994) Effect of sources and levels of nitrogen on yield of mulberry. *Indian J. Agric. Res.* 28 (4) : 280 – 284.
- RAVIKUMAR C., Eshwar Rao, M.S. and Veeresh, M. (1991) The DD variety stands out among the promising indigenous clonal selections of mulberry. *Indian Silk*, 30 (2); 10 – 15.

- SANNAPPA B., Devaiah, M.C. and Govindan, R. (2001) Influence of sources and levels of nitrogen on mulberry and cocoon production. *Tech. Bull.* Dept. of Sericulture, UAS, Bangalore, p. 77.
- SHANKAR M. A.(1990) Nutritional management of mulberry and its effect on silkworm growth, development and silk quality. Ph. D. Thesis, UAS, Bangalore ,p,140.
- SHANKAR M.A. (1997) Hand book of mulberry nutrition. Multiplex. Karnataka Agro Chemicals, Bangalore. P. 121.
- SUBBARAYAPPA C. T.(1988) Effect of different sources of nitrogenous fertilizers on yield and quality of mulberry and cocoons. M. Sc.(Agri). *Thesis*. UAS. Bangalore.p,64.
- TANDON H. L. S.(1991) Sulphur research and agricultural production in India. Fertilizer development and consultation organization. New Delhi,pp,95.
- TANDON H.L.S. (1994) Fertilizer guide. Fertilizer development and consultation organization, New Delhi. P 95.

ABSORPTION DES NUTRIMENTS SECONDAIRES DES PLANTES CHEZ LE MURIER DANS DES CONDITIONS D'IRRIGATION

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

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

On a réalisé une étude sur le terrain au Karnataka State Sericulture Research & Development Institute avec les variétés de mûrier M5, S36 et DD (Vishwa) avec deux espacements des plants et avec deux doses d'engrais. On a enregistré les observations sur cinq récoltes de mûrier, pendant un an, comme données regroupées. Parmi les trois variétés cultivées, on enregistre un rendement maximum chez la variété S36 suivie par la variété Vishwa et avec l'espacement le plus étroit par rapport à l'espacement le plus large. Le rendement en pousses est compris entre 61 382 et 101 229 kg / ha / an. Le rendement en feuilles est compris entre 35 147 et 58 200 kg / ha / an et le rendement en tiges est compris entre 25897 et 43293 kg / ha / an. Les teneurs en calcium, en magnésium et en soufre de la feuille varient respectivement entre 1,87 et 2,13 ; 1,09 et 1,26 et 0,14 et 0,16 % et les teneurs en calcium, en magnésium et en soufre de la tige varient respectivement entre 0,67 et 0,80 ; 0,53 et 0,64 et 0,05 et 0,08 %. Chez le mûrier, l'absorption de calcium, de magnésium et de soufre par la feuille est comprise respectivement entre 202 et 295, 103 et 168 et 14 à 22 kg / ha / an et par la tige elle est comprise respectivement entre 40 et 71, 29 et 60 et 4 à 8 kg / ha / an. Dans cette étude, la différence significative de rendement en feuilles, de rendement en tiges, d'absorption de calcium, d'absorption de magnésium et d'absorption de soufre enregistrée entre les variétés et les espacements suggère qu'il y a une spécification liée à la variété et qu'il faut aussi prendre en compte la production de biomasse dans la méthode de recueil des pousses pour l'application des engrais, afin d'optimiser le rendement et la qualité du mûrier.

INTRODUCTION

Les nutriments des plantes sont indispensables pour la croissance optimale de la plante. On a considéré que seize éléments sont des nutriments indispensables aux plantes et on les a classés en nutriments primaires, secondaires et tertiaires des plantes. Les nutriments secondaires des plantes sont le calcium, le magnésium et le soufre. Le calcium, une partie de la structure de la paroi et de la membrane cellulaire est impliqué dans l'allongement des racines, la division, la croissance de la cellule et dans l'activation des enzymes. Le magnésium est un constituant de la molécule de la chlorophylle, qui joue un rôle important dans la photosynthèse. Le soufre est indispensable à la synthèse des protéines (Tandon, 1991). L'ajout de nutriments dans le sol soit par des engrais organiques, inorganiques ou biologiques est devenu partie intégrante des stratégies de production agricole. Jusqu'à présent, on n'a pas recommandé l'application de nutriments secondaires des plantes chez le mûrier. Le mûrier étant une plante à racines profondes et produisant une biomasse importante, il produit environ 25 à 30 tonnes de feuilles / ha / an dans des conditions de pratiques normales et il produit environ 40 à 60 tonnes de feuilles / ha / an avec des variétés à rendement élevé. Avec la méthode de recueil des pousses, où on récolte toute la plante à chaque récolte, on ramasse 60 à 90

* Auteur auquel adresser la correspondance.

tonnes de pousses / ha / année. En Inde, la plupart des travaux sur les engrais chez le mûrier, n'ont pas pris en compte l'absorption de NPK par la plante, lors de la détermination des doses optimales pour la qualité et le rendement foliaires (Purohit et Pavankumar, 1996). Un principe en matière de culture a précisé il y a longtemps que ce qui est pris du sol doit pleinement y retourner (Liebig, 1841). Cela nécessite des études complètes spécifiques chez les cultures sur le bilan en nutriments pour faciliter la culture durable des espèces de cultures. Puisque la culture continue entraîne des pertes en nutriments, l'application supplémentaire d'engrais est une pratique agronomique primordiale. Il est nécessaire d'entreprendre des études systématiques sur les quantités de nutriments retirés du sol et sur le besoin réel en nutriments du mûrier. Compte tenu de cela, cette étude sur le bilan en nutriments chez le mûrier a été entreprise sur le terrain.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé une étude de terrain dans une muraie venant d'être établie du *Karnataka State Sericulture Research & Development Institute* de Bangalore en 1997-2004 dans des conditions d'irrigation. Le sol est un type de terreau sablonneux avec un pH de 7,8. On procède aux pratiques culturales d'après l'ensemble des pratiques recommandées (Jolly, 1987) pour le mûrier dans des conditions d'irrigation, avec l'ajout de NPK, à raison de 300 : 120 : 120 kg / ha / an et de 400 : 120 : 120 kg / ha / an, avec une modification pour le phosphore et le potassium, que l'on applique en cinq doses égales séparées. On applique le NPK sous la forme d'engrais complexe (15 : 15 : 15) et on applique la quantité différentielle d'azote sous la forme d'urée. De plus, on applique une première dose de fumier (FYM) à raison de 10 tonnes / ha pour la première récolte et une deuxième dose de 10 tonnes / ha pour la troisième récolte, peu après la cueillette de la deuxième récolte. On applique le fumier entre les rangées de mûriers, après avoir creusé de petites tranchées dans chaque microparcelle et les avoir recouvertes de sol. On applique les engrais chimiques entre les rangées trois semaines après une taille basale, après l'irrigation de la muraie et on les recouvre immédiatement de sol. On irrigue la muraie une fois par semaine pendant la saison sèche. L'expérience est conçue selon une division des parcelles en six traitements principaux et en deux sous-traitements, avec trois répétitions. La parcelle expérimentale fait 7,2 × 7,2 m de taille avec une population de 144 plants / microparcelle avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm et de 64 plants / microparcelle avec l'espacement des plants de 90 × 90 cm. Au total, il y a 36 microparcelles concernant trois variétés de mûrier (M5, S36 et Viswa), avec deux espacements (60 × 60 cm et 90 cm × 90 cm) et deux doses d'engrais (300 : 120 120 et 400 : 120 : 120 kg NPK / ha / an. Les combinaisons de traitement sont les suivantes :

Traitements principaux :

- T1 = Variété M5 avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm
- T2 = Variété M5 avec l'espacement des plants de 90 × 90 cm
- T3 = Variété S36 avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm
- T4 = Variété S36 avec l'espacement des plants de 90 × 90 cm
- T5 = Variété Vishwa avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm
- T6 = Variété Vishwa avec l'espacement des plants de 90 × 90 cm

Sous traitements :

- F1 = 300 : 120 : 120 kg NPK / ha / an
- F2 = 400 : 120 : 120 kg NPK / ha / an

On enregistre les observations au bout de 70 à 75 jours de croissance et on suit la méthode de recueil des pousses pour les cinq récoltes, couvrant un cycle annuel de récoltes. On procède à l'évaluation du rendement en pousses en recueillant tous les plants de la microparcelle, que l'on estime en rendement en kg / ha. On recueille les échantillons de feuilles et de tiges de chaque micro parcelle

et on enregistre l'humidité. On sèche d'abord les échantillons à l'air et puis au four à 70° C et on les réduit en poudre. On estime la teneur en calcium, en magnésium et en soufre dans les feuilles et les tiges en suivant la méthode proposée par Jackson (1973). D'après la teneur en calcium, en magnésium et en soufre de la feuille et de la tige, on calcule les quantités de calcium, de magnésium et de soufre retirées avec les différents traitements, sur la base de la matière sèche.

RESULTATS

Rendement en poussettes, en feuilles et en tiges :

Les rendements en poussettes, en feuilles et en tiges diffèrent de manière significative sous l'effet du traitement principal (Tableau I).

On enregistre le rendement maximum avec l'espacement le plus étroit par comparaison à l'espacement le plus large. Parmi les variétés cultivées, on enregistre le rendement maximum avec la variété S36 suivie par la variété Vishwa. Le rendement en poussettes est compris entre 61 382 (T2) et 101 229 kg / ha / an (T3). Le rendement foliaire est compris entre 35 147 (T2) et 58 200 (T3) kg / ha / an et le rendement en tiges est compris entre 25 897 (T2) et 43 293 kg / ha / an (T3). Le rendement en poussettes, en feuilles et en tiges diffère de manière significative sous l'effet du sous traitement. On enregistre le rendement maximum avec F1 par comparaison au traitement F2. On observe aussi des différences significatives dues à l'effet de l'interaction entre les traitements. On enregistre le rendement maximum en poussettes et en feuilles (101 229 et 58 200 kg / ha / an respectivement) avec la combinaison de traitement de la variété S36, avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm et 400 : 120 : 120 kg NPK / ha / an, suivi par la variété Vishwa (respectivement 100 447 et 57 151 kg / ha / an) avec les mêmes espacement et dose d'engrais.

Teneur en calcium, en magnésium et en soufre de la feuille et de la tige :

La teneur en calcium de la feuille de mûrier diffère de manière significative sous l'effet du traitement principal et ne diffère pas de manière significative sous l'effet du sous traitement et de l'interaction (Tableau II). Cependant, la teneur en calcium est comprise entre 1,87 et 2,13 % dans la feuille. La teneur en calcium dans la tige de mûrier ne diffère pas de manière significative sous l'effet du traitement principal, sous l'effet du sous-traitement et sous l'effet de l'interaction. La teneur en calcium dans la tige est comprise entre 0,67 et 0,80 %.

La teneur en magnésium dans la feuille et dans la tige de mûrier ne diffère pas de manière significative. Cependant, la teneur en magnésium dans la feuille et dans la tige de mûrier est comprise entre respectivement 1,09 et 1,26 et 0,53 et 0,64 %.

La teneur en soufre dans la feuille de mûrier ne diffère pas de manière significative sous l'effet du traitement principal, du sous-traitement et de l'interaction. Cependant, la teneur en soufre dans la feuille de mûrier est comprise entre 0,14 et 0,6 %. La teneur en soufre de la tige diffère de manière significative sous l'effet du traitement principal et ne diffère pas de manière significative sous l'effet du sous traitement et de l'interaction. La teneur en soufre dans la tige de mûrier est comprise entre 0,05 et 0,08 %.

Absorption de calcium, de magnésium et de soufre par la feuille et par la tige :

L'absorption de calcium par la feuille et par la tige diffère de manière significative sous l'effet du traitement principal et du sous-traitement et ne diffère pas de manière significative sous l'effet de l'interaction. L'absorption de calcium par la feuille est maximum avec T3 (289 kg / ha / an) et minimum avec T2 (208 kg / ha / an). L'absorption de calcium par la tige est maximum avec T5 (64 kg / ha / an) et minimum avec T4 (45 kg / ha / an). Cependant l'absorption de calcium par la feuille et par la tige est comprise entre 202 et 295 et entre 40 et 71 kg / ha / an.

L'absorption de magnésium par la feuille et par la tige diffère de manière significative sous l'effet du traitement principal et du sous-traitement et ne diffère pas de manière significative sous l'effet de l'interaction. L'absorption de magnésium par la feuille et par la tige est comprise entre 103 et 168 et entre 29 et 60 kg / ha / an.

L'absorption de soufre par la feuille et par la tige diffère de manière significative sous l'effet du traitement principal et du sous-traitement et ne diffère pas de manière significative sous l'effet de l'interaction. L'absorption de soufre par la feuille est maximum avec T5 (21 kg / ha / an) et minimum avec T2 (14 kg / ha / an). L'absorption de soufre par la tige est maximum avec T5 (7 kg / ha / an) et minimum avec T2, T4 et T6 (4 kg / ha / an). Cependant, l'absorption de soufre par la feuille et par la tige est comprise entre 14 et 22 et entre 4 et 8 kg / ha / an.

DISCUSSION

On enregistre les rendements maximum en pousses et en feuilles avec T3 avec la variété S36, qui donne comparativement les meilleurs résultats. La variété DD (Vishwa) donne aussi de meilleurs résultats et est à égalité avec la variété de mûrier S36. Il est prouvé qu'un apport important d'engrais augmente le rendement en feuilles et en pousses. Rajanna et Dandin (1994) ont observé un rendement significativement plus élevé avec un niveau de 450 kg de N par comparaison à un apport en N de 300 kg. Ghosh et coll., (1997) ont rapporté que S36 est supérieure compte tenu de son rendement foliaire plus important. Ravikumar et coll., (1991) ont signalé que la variété DD (Vishwa) donne de meilleurs résultats par rapport aux autres variétés de mûrier indigènes. Lorsqu'on compare les espacements, on observe plus de rendement avec l'espacement le plus étroit (60 × 60 cm). Sur la base de cette étude, on peut conclure que parmi les différentes combinaisons de traitement, on enregistre des valeurs plus élevées de rendement foliaire et de rendement en pousses avec la variété S36, avec l'espacement des plants de 60 × 60 cm, avec la dose d'engrais de 400 : 120 : 120 kg NPK / ha / an. On n'observe pas beaucoup de différence pour la teneur en calcium, en magnésium et en soufre de la feuille et de la tige sous l'effet de la variété, de l'espacement et de l'engrais. Les observations sur la teneur en calcium, en magnésium et en soufre de la feuille et de la tige de mûrier sont en accord avec les observations de Puttaswamy (1993), Joseph (1991), Shankar (1997) et Sannappa (2001).

L'absorption de nutriments se réfère à la quantité totale de nutriments pris ou absorbés par une culture pendant la période où elle est en champ. La quantité de nutriments enlevée du sol dépend des parties des plantes qui sont récoltées et de leur composition (Tandon, 1994). Dans cette étude, on a recours à la méthode de recueil de toutes les pousses pour chaque récolte. La méthode de récolte des pousses est devenue populaire de nos jours. Avec cette méthode, le ver à soie n'utilise que la feuille et la tige devient inévitablement un déchet. Cette méthode de recueil des pousses entraîne un épuisement rapide des nutriments du sol dans la muraie. Parmi l'ensemble des pratiques de culture chez le mûrier, l'application d'engrais contenant du calcium, du magnésium et du soufre n'a pas fait l'objet d'études (Jolly, 1987). On sait qu'un bon rendement en cocons dépend principalement de la teneur en nutriments de la feuille de mûrier, qui à son tour, dépend des pratiques culturales suivies par rapport aux apports agronomiques (Bongale et Chaluvachari, 1993). Il est intéressant de noter qu'on observe une augmentation de 34 % du rendement foliaire quand on utilise du nitrate d'ammonium et de calcium (CAN), ainsi qu'une amélioration du rendement foliaire, de la qualité de la feuille, du poids du cocon, du poids de la coque, du poids de la nymphe et de la longueur du filament des cocons, qui sont significativement plus élevés quand le CAN est la source d'azote pour les plantes (Subbarayappa, 1988).

D'après ces observations, on peut conclure que le retrait de calcium par la feuille et par la tige de mûrier est compris respectivement entre 202 et 295 et 40 à 71 kg / ha / an. Le retrait de magnésium par la feuille et par la tige de mûrier est compris respectivement entre 103 et 168 et 29 et 60 kg / ha / an et le retrait de soufre par la feuille et par la tige de mûrier est compris respectivement entre 14 et 22 et 4 à 8 kg / ha / an. Si le retrait de calcium, de magnésium et de soufre a lieu à ce taux, il pourrait se produire un épuisement rapide des nutriments des plantes dans le sol. En raison de la culture

intensive, il faudrait non seulement accorder de l'importance à l'apport de NPK, mais également à l'apport de Ca, de Mg et de S dans la nutrition du mûrier pour obtenir une feuille de qualité maximum, puisque c'est une culture pérenne qui dégage de bons profits pour les fermiers, tout au long de l'année, dans les pays tropicaux (Shankar, 1990). On suggère donc un bilan systématique par rapport au retrait de Ca, de Mg et de S et leur ajout dans la culture du mûrier.

EFFECT OF INTEGRATED NUTRIENT MANAGEMENT ON SOIL MICROFLORA OF IRRIGATED MULBERRY GARDENS

JAISHANKAR & S. B. DANDIN*

Regional Sericultural Research Station, Carmelram post, Kodathi, Bangalore - 560 035, India.

Recent studies on soil nutritional status of mulberry gardens have showed that the soils started manifesting the signs of low organic carbon and gradual shifting of soil pH from neutral to alkaline and alkaline to highly alkaline conditions. This condition has also resulted in widespread deficiencies of both macro-nutrients and micro-nutrients besides reduction in population of microflora especially the beneficial ones. In this context, the "Integrated Nutrient Management" approach (INM) which is the science and philosophy of reversing the ill effects arising from soil mining of nutrients and loss of beneficial microflora to promote sustainable agriculture. In the present study the impact of INM Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) green manuring, enriched compost and vermicompost, biological inputs viz., *Azotobacter* (*Azotobacter chroococcum*), phosphate solubilizing microorganisms (PSM) (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*), and vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) (mixed culture of *Glomus mosseae* and *G. fasciculatum*) in conjunction with reduced doses (50%) of inorganic fertilizers application as per Central Sericultural Research and Training Institute (CSR&TI) Mysore, recommendation on the microflora of root zone as well as rhizosphere of mulberry gardens was undertaken. The results showed that there was a significant improvement in the soil microbial population, especially those belonging to the beneficial and saprophytic groups in treated gardens as compared to control.

Altogether, 22 forms of microflora were isolated from the soil rhizosphere in mulberry gardens, among them 17 belonged to fungi, 4 to bacteria, and one to actinomycetes. Based on the occurrence and abundance, though the beneficial microflora viz., *Azotobacter* spp., and *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *Bacillus subtilis*, *Verticillium chlamydosporium*, *Streptomyces* spp., and *Pseudomonas fluorescens* occurred regularly in all the treated plots, the first two were found most abundant. This might be due to synergistic effect of co-inoculation of *Azotobacter*, PSM, VAM, besides application of organics such as vermicompost, green manures, and 50 per cent curtailment in recommended dose of chemical fertilizers. The dominant forms of harmful microflora observed in the present investigation were *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, and *Lasiodiplodia theobromae*. Thus, the maintenance of various groups of beneficial microorganisms at a particular level in the soil is highly essential for irrigated mulberry, and which is possible through INM approach.

Keywords: Integrated Nutrient Management, Rhizosphere, Microflora.

INTRODUCTION

The sustainable growth of plants is greatly influenced by the physical, chemical, and biological properties of the soil which determines soil health and in turn depends on the growth and activity of the microflora present in the rhizosphere of the soil. The rhizosphere is a dynamic habitat and harbours a variety of microbes with different types of metabolic and adaptive responses. The synergistic

* National Silkworm Seed Organization, Central Silk Board, CSB Complex, Madivala, Bangalore - 570068, India.

interactions between plants and microbes are important in producing the nutritional requirements for both the members. The rhizosphere of soil region is in close contact with plant roots and exerts a direct influence on the beneficial/harmful microbes, especially bacteria/fungi and hence this phenomenon has been denoted by Ronald (1996) as 'Rhizosphere Effect'. Many harmful microbes causing diseases in plants, particularly in roots, which outnumber beneficial in soils, when applied with fertilizers and other agro-chemicals. Beneficial microflora such as bacteria, fungi, and actinomycetes play a decisive role in the soil as agents of organic matter decomposition, formation of soil aggregates, fixation of nitrogen, mobilization of inorganic nutrients, participation in mycorrhizal association, induction of systemic resistance in plants against pests and diseases, etc (Subba Rao 1986).

From the information available, it becomes imperative that the three categories of soil microflora viz. bacteria, fungi, and actinomycetes play an important role in the functioning of ecosystem as also suggested by Pal and Jalali (1998). The factors affecting the population of microflora in the soil are oxygen availability, pH, farm practices, fertilizer and pesticide application, and organic amendments. Enhancing soil-microorganism population is also a way of building fertility leading to increased productivity. Any change in the soil is immediately reflected by the soil microflora population and in turn by crop productivity. Once the required population of the microflora is built up, their activity continues for many years in the soil till attaining an optimum level of population, and further inoculation may not be required (Subba Rao, 1986). Hence, it is highly essential to stabilize such beneficial microflora in the soil environment to improve soil fertility that contributes to a greater extent for sustainable yield and quality of mulberry leaf (Earanna and Govindan, 2002).

Various workers have studied the rhizosphere microflora in relation to its growth and age of the mulberry plants (Sudhakar *et al.*, 1999; Chowdary *et al.*, 2004). Therefore, there is a dire need to understand the effect of soil amended with green manures, bacterial biofertilizer (*Azotobacter*), PSM, VAM, enriched compost, and vermicompost on microflora (fungi, bacteria, and actinomycetes) in the rhizosphere of irrigated mulberry.

The knowledge on the occurrence of beneficial/harmful microflora in the rhizosphere in mulberry gardens may help to decide the appropriate quantity (dose) of the organic manures to be applied. The information in this regard has been highly scanty, especially with reference to mulberry. So far, no attempts have been made to study the effect of beneficial microflora in soil after application of all the organic (green manures, compost/vermicompost) and biological inputs in conjunction with reduced doses (50%) of inorganic fertilizers i.e. under integrated nutrient management (INM) condition.

MATERIALS AND METHODS

The studies were undertaken (2002-2005) in three village clusters, viz., Hosapet, Beechagondanahalli, and Chowdadenahalli of Kolar District, Karnataka State, India. Of the 45 farmers (15 from each cluster) identified for the study, 30 (10 from each cluster) with 0.2 to 0.4 ha improved mulberry variety V₁ were selected for the INM treatment based on their willingness to adopt the integrated practices and also based on the suitability of their holdings. The remaining 15 farmers (5 from each cluster) with similar extent of improved mulberry variety were allowed to continue their conventional practices (control). The number of farmers selected for the INM treatment and control could not be kept equal due to heterogeneity in the mulberry plantation and socio-economic status of the identified farmers. Hence, due care was taken to adopt the farmers who predominantly had V₁ variety with wider spacing and comparable socio-economic status. This also minimizes the error while analyzing the impact of INM at the end of the study period. Similar study was also undertaken simultaneously at the Regional Sericultural Research Station (RSRS), Kodathi, under CSR & T₁, Mysore, India in 0.40 ha V₁ mulberry garden of which 50 per cent was considered for INM treatment and the remaining 50 per cent as control with recommended practices.

The bacteria, fungi, and actinomycetes were estimated by determining the number of colony forming unit/s (cfu/s) per gram of soil on yearly basis in order to monitor the build-up of microbial population in the rhizosphere of both INM treated and control fields. For conducting the experiment, the following steps were taken. Before collection of the soil samples, the tools like shovel, secateur, pickaxe, *etc.*, were sterilized with 5 per cent formaline solution and oven dried at 50° C to avoid contamination. The glassware was sterilized in a hot air oven at 250 °C for one h.

i) Collection of soil samples in rhizosphere habitat:

By randomly selecting 25 plants from each farmer's field, the soil samples from close proximity of root zones at 15-30 cm depth were collected in sterilized polythene bags. These plants were labeled by tagging for collection of the soil samples for 2nd and subsequent years. For preparation of composite samples, all the 25 soil samples collected from each farmer's garden were separately mixed together.

ii) Isolation of microbes from rhizosphere habitat:

The microflora present in the soil was isolated by dilution plate technique (Waksman, 1927). The composite soil sample of each replication was air dried, powdered and sieved through a 2 mm mesh and the fine soil stored in sterilized polythene bags. Ten g of the soil was suspended in 90 ml of sterilized distilled water in 250 ml Erlenmeyer flasks and shaken thoroughly to have a 1:10 dilution. The flasks were kept undisturbed for 20-30 min for the soil particles to settle. One milliliter of 1:10 solution was then transferred to a sterilized test tube containing 9 ml sterilized distilled water. The process was repeated several times to obtain the final dilution of 1:10,000.

iii) Preparation of microbial culture media and pouring of media in plates:

The different culture media, viz., potato dextrose agar, nutrient agar, and actinomycetes agar were prepared for the isolation of fungi, bacteria, and actinomycetes, respectively. The required amounts of ingredients for the respective medium were weighed in an electronic balance and taken in sterilized conical flasks. The ingredients were mixed thoroughly with required quantity of distilled water. The mouth of each flask containing ingredients was covered with a sterilized cotton plug and a layer of aluminium foil to avoid the contamination. The flasks containing different media were then sterilized at 137.89 kPa (at 120° C approx.) using a vertical autoclave and cooled down at room temperature.

Five milliliters of final dilution of each rhizosphere sample was mixed with 100 ml of respective lukewarm medium and poured into five petri plates at the rate of 20 ml/plate separately. The inoculated petri plates were then inverted and incubated at 28 ±2°C for the growth of fungi and actinomycetes for seven days in a BOD incubator, while for bacteria the plates were incubated at 30° C for 2-3 days.

After incubation, the growth of fungi, bacteria, and actinomycetes was recorded and the population in terms of cfus /g soil was calculated.

iv) Macroscopic examination of microflora:

First, all the colonies developed on the agar surface in different petri plates were observed macroscopically. The solid puffy growth on medium indicated the presence of fungi while watery growth showed the presence of bacteria. However, the actinomycetes appeared on medium like a shiny colony in the form of pustule (pearl-like) in different colours (white, gray, milky, *etc.*).

v) Microscopic examination of microflora:

Bacteria were first stained with gram staining method as described by Buchanan and Gibbs (1975). For this, smears of bacterial cells from 3 to 4 day-old colonies were prepared on microscopic slides by spreading the bacterial cells using a drop of sterilized water and air-dried. The bacterial cells were then flooded with ammonium oxalate crystal violet solution (0.8 g of ammonium oxalate dissolved in 80 ml of distilled water and mixed with 2 g of crystal violet having 90 per cent dye content

dissolved in 20 ml of 95 per cent ethyl alcohol) for a minute. The slides were washed in running tap water for 2 sec and immersed in iodine solution (1 g iodine + 2 g potassium iodide dissolved in 300 ml distilled water) for a minute and again washed in running tap water till the excess stain was removed. The slides were then flooded with 95 per cent ethanol for 30 sec to decolorize and counter stained with safranin solution for 30 sec. Finally, the slides were washed in running tap water and blot dried to examine microscopically. All the slides were examined under a high-resolution phase contrast Leica[®] binocular microscope to identify the bacteria on the basis of gram reaction as gram -ve and gram +ve.

The fungi were identified on the basis of their morphological characters, which consisted of vegetative and reproductive structures including the shape, size, colour, and arrangements/attachment of spores on the sporophores or the fruiting bodies. These structures were examined under the microscope directly after preparation of mounted slides. Later, the fungal hyphae were spread as a thin layer on the lactophenol and covered with a cover slip for observing under microscope. All the morphological characters were pooled and compared with those of all recognized groups of fungi.

The developed actinomycetes in the plates were identified on the basis of colony characters like growth pattern on agar media. Later, the sporophore characters were noted by direct microscopic examination after the preparation of slide. Based on the morphology of the sporophores (rectus, flexibles, retinaculum apertum, spira, etc.), the actinomycetes genera were confirmed. The identified microbes (fungi, bacteria, and actinomycetes) from the present study were also compared with Mulberry Pathology Culture Collection Bank at CSRTI, Mysore, for confirmation of their identity.

vi) Categorization and frequency of isolated microflora:

After isolation and identification of microflora from rhizosphere habitats, they were categorized based on their behaviour into three groups viz., beneficial, harmful, and saprophytic. The increase (+) or decrease (-) of the beneficial/harmful/saprophytic microflora in treated soil over the control (farmers' practices/CSRTI recommendations at RSRS Farm) was calculated.

The percentages of abundance and frequency of various forms of microflora were calculated by applying the appropriate formulae. Based on the frequency of occurrence (%), the individual forms of microflora were also expressed as dominant, common, frequent, and occasional (Das *et al.*, 1998).

RESULTS

The data on soil microflora (fungi, bacteria, and actinomycetes) (Table I) revealed that, in general, the total population increased significantly due to practice of INM as compared to control. The population of harmful microflora was observed to be significantly higher in the soils before application of various biofertilizers (*Azotobacter*, PSB, and VAM) and organics, while the populations of beneficial and saprophytic microbes were at their minimum. After application of various biofertilizers and organics, interestingly, the populations of harmful microflora declined significantly and those of beneficial and saprophytic microbes increased significantly.

Altogether, 22 forms of microflora were isolated from the soil rhizosphere in mulberry gardens. Among them 17 belonged to fungi, 4 to bacteria, and one to actinomycetes. Further, these microflora were categorized based on their behaviour (characteristic features) into three groups, viz., beneficial, harmful, and saprophytic microbes as detailed below.

Table 1. Effect of INM on microbial population in rhizosphere soil.

Tableau 1. Effet de l'INM sur la population microbienne dans le sol de la rhizosphère.

Particulars	Beneficial microflora (cfu/g soil $\times 10^6$)			Harmful microflora (cfu/g soil $\times 10^6$)			Saprophytic microflora (cfu/g soil $\times 10^6$)			Total microbes (Fungi, bacteria & actinomycetes) (cfu/g soil $\times 10^6$)		
	Initial status	I st yr	II nd yr	Initial Status	I st yr	II nd yr	Initial status	I st yr	II nd yr	Initial status	I st yr	II nd yr
Caractéristiques	Microflore bénéfique (cfu/g sol $\times 10^6$)			Microflore nuisible (cfu / g de sol $\times 10^6$)			Microflore saprophyte (cfu / g de sol $\times 10^6$)			Ensemble des microbes (Champignons, bactéries & actinomycètes) (cfu / g de sol $\times 10^6$)		
	Situation initiale	1 ^{ère} année	2 ^{ème} année	Situation initiale	1 ^{ère} année	2 ^{ème} année	Situation initiale	1 ^{ère} année	2 ^{ème} année	Situation initiale	1 ^{ère} année	2 ^{ème} année
Farmers' fields / Terrains de fermiers												
INM	5.96	12.50	17.56	10.83	8.65	7.68	6.88	7.58	11.71	23.67	28.73	36.95
Control / Témoin	6.50	4.06	2.61	12.95	12.61	12.09	9.05	6.53	3.64	28.50	23.2	18.35
	SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%	
Yearly / Annuel (A)	0.61	1.68		0.79	2.17		0.16	0.46		0.73	1.97	
Treatment / Traitement (B)	0.76	2.06		0.91	2.62		0.29	0.79		0.85	2.36	
A $\times$ B	0.82	2.21		1.22	3.34		0.36	0.97		0.99	2.73	
RSRS Farm / Ferme RSRS												
INM	2.26	3.91	19.26	4.65	5.23	10.56	2.42	2.79	14.96	9.33	11.93	44.78
Control / Témoin	1.79	1.02	9.56	5.55	5.68	22.53	1.69	1.01	6.66	9.03	7.71	38.75
	SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%		SE $\pm$	CD at 5%	
Yearly / Annuel (A)	0.25	0.68		0.20	0.55		0.11	0.30		0.14	0.38	
Treatment / Traitement (B)	0.39	1.06		0.24	0.66		0.19	0.52		0.23	0.62	
A $\times$ B	0.82	2.21		0.99	2.73		0.31	0.84		0.29	0.79	

Table II. Frequency of occurrence of identified microflora.

Tableau II. Fréquence de la microflore identifiée.

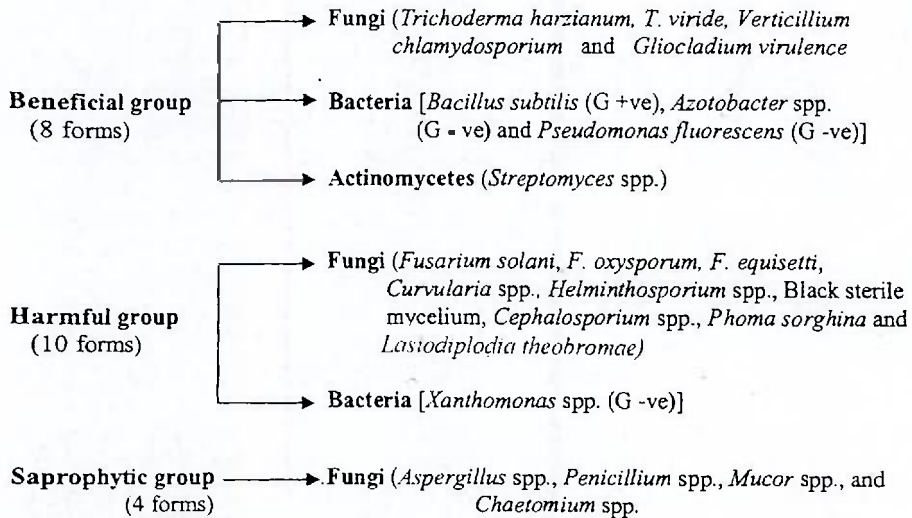
Sl. No.	Microflora	Frequency of microflora			
		Farmers' fields		Farm of RSRS, Kodathi	
		Control	Treated	Control	Treated
		Fréquence de la microflore			
		Terrains de fermiers		Ferme de RSRS, Kodathi	
No. de série	Microflore	Témoins	Traités	Témoin	Traité
Beneficial / Bénéfique					
1	<i>Trichoderma harzianum</i>	+	++++	++	++++
2	<i>T. viride</i>	+	+++	+	++++
3	<i>Gliocladium virulence</i>	+	+++	+	++
4	<i>Verticillium chlamydosporium</i>	+	+++	+	+++
5	<i>Azotobacter</i> spp.	+	++++	++	++++
6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	++++	+	++++
7	<i>Bacillus subtilis</i>	+	++++	+	++++
8	<i>Streptomyces</i> spp.	+	+++	+	+++
Harmful / Nuisible					
9	<i>Xanthomonas</i> spp.	++++	+	+++	+
10	<i>Fusarium solani</i>	++++	+	++++	+
11	<i>F. oxysporum</i>	++++	+	++++	+
12	<i>F. equiseti</i>	+++	+	++	-
13	<i>Curvularia</i> spp.	++	-	+++	-
14	<i>Helminthosporium</i> spp.	++	-	++	-
15	Black sterile mycelia / <i>Mycélia stériles noirs</i>	++	-	++	-
16	<i>Cephalosporium</i> spp.	+++	+	++	-
17	<i>Phoma sorghina</i>	+++	+	+++	+
18	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	++++	+	++++	-
Saprophytic / Saprophyte					
19	<i>Aspergillus</i> spp.	++	+++	++	+++
20	<i>Penicillium</i> spp.	++	+++	++	++
21	<i>Mucor</i> spp.	+++	++	+++	+++
22	<i>Chaetomium</i> spp.	++	++	++	++

Dominant (81-100%) / Dominant (81-100%) = ++++

Common / Courant (61-80 %) = ++;

Frequent / Fréquent (41-60 %) = ++

Occasional / Occasionnel (0 - 40 %) = +



Based on the occurrence and abundance, though the beneficial microflora viz., *Azotobacter* spp., and *T. harzianum*, *T. viride*, *B. subtilis*, *V. chlamydosporium*, *Streptomyces* spp., and *P. fluorescens* occurred regularly in all the treated plots of farmers' gardens and at RSRS Farm, the first two were found most abundant. The same group of microflora was less abundant and prevailed occasionally in control plots.

The dominant forms in the rhizosphere soil of control plots at farmers' gardens and at RSRS Farm included the harmful groups like *F. solani*, *F. oxysporum*, *L. theobromae* and *Xanthomonas* spp. The rest of the forms in this group (*F. equiseti*, *Curvularia* spp., *Helminthosporium* spp., black sterile mycelium, *Cephalosporium* spp., *Phoma sorghina*) occurred occasionally or rarely. In saprophytic group, all the forms like *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., and *Chaetomium* spp. were observed to be common and frequent in both treated and control plots (Table II).

DISCUSSION

The vigorous activity of soil microflora is an important indicator of soil fertility and soil health. The microbial population varied considerably with the type of soil and cultural practices, and use of inorganic fertilizers. In the present study, there was a significant improvement in the soil microbial population, especially those belonging to the beneficial and saprophytic groups in treated gardens of RSRS Farm and farmers' fields as compared to control. This might be due to synergistic effect of co-inoculation of *Azotobacter*, PSM, and VAM, besides application of organics such as vermicompost, green manures, and 50 per cent curtailment in recommended dose of chemical fertilizers (recommended dose 350:140:140 NPK kg/ha/yr). Further, the enhanced number of colonies of beneficial microflora, especially *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp., *Penicillium* spp., and *Aspergillus* spp., due to application of various biofertilizers and organics, helped microflora to co-exist in the rhizosphere of mulberry and balancing the population in nature.

The dominant forms of harmful microflora like *F. solani*, *F. oxysporum*, and *L. theobromae* observed in the present investigation, are reported to cause root rot and wilt diseases in many crops, including mulberry (Sharma *et al.*, 2003). *Helminthosporium* spp. and *Xanthomonas* spp. that have been recorded in the present study, cause various types of diseases viz., stem canker, wilt, etc. in certain crops (Rangaswami and Mahadevan, 1999). Further, the dominant and frequently occurring forms like *Azotobacter* spp., *B. subtilis*, *T. harzianum* and *V. chlamydosporium* belonging to beneficial groups in rhizosphere soil were enhanced due to the application of various biofertilizers and organics which, perhaps, have contributed to the microbial transformation of many complex plant nutrients into simpler and available forms thereby boosting the growth and leaf yield of mulberry. Among the above forms, *T. harzianum* and *V. chlamydosporium* are recommended for the control of nursery root rot and root knot diseases in mulberry (Sharma *et al.*, 2003). Besides, *Azotobacter*, *B. subtilis* and *P. fluorescens* are utilized as growth promoters to induce the systemic resistance in various plants, including mulberry (Gupta and Sharma, 2004). In the case of saprophytic groups, fungi like *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp., found to occur dominantly and frequently are well known for the production of various antibiotics, which also protect the plant roots from certain kinds of pathogens (Pal and Jalali, 1998).

The species of *Trichoderma* inhibit the growth of pathogens through hyper-parasitism, competition, and antibiosis. During antibiosis, *Trichoderma* is also known to produce hydrolytic enzymes and antifungal compounds like chitinases, trichodermin, and gluconase, which dissolve the cell wall of the pathogenic fungi leading to arresting of the growth (Tronsmo, 1996). VAM is known to produce various amino acids, phenolic compounds and phytohormones (Tinker, 1984) and also induces certain physiological and biochemical changes in the host plants, which restrict the infection and multiplication of root pathogens as reported by Sikora (1978). *Azotobacter* is also reported to produce growth hormones and vitamins, viz., gibberellin, biotin, nicotinic acid etc., which help in inducing resistance in mulberry against certain pathogens (Subba Rao *et al.*, 1992; Sharma *et al.*, 1994). Phosphate solubilizing bacteria produce toxic metabolites like bulbiformin, phenazin, organic acids, siderophores, etc., which help in decreasing the infection of soil borne pathogens as reported by Dalla (1986). The vermicompost helps in enhancing the multiplication of various beneficial microbes in soil, and proliferation and colonization of VAM, apart from supplying nutrients like NPK to plants (Gaonkar and Sreenivasa, 1994).

The results of the present study also showed that compost/vermicompost generated using raw materials including farm and sericultural residues were found superior in terms of colony forming units over other raw materials. Nirmalnath *et al.* (2001) while assessing the microflora of different crop residues reported that vermicompost obtained from cowdung harboured the highest microbial load: bacteria (73×10^5), fungi (18×10^3), actinomycetes (100×10^4), *Azotobacter* (40.67×10^4), and PSB (29×10^4). Anshu Singh *et al.* (2003) have also recorded a significant difference in the quality of compost produced with the bioinoculants (*Pleurotus sajorcaju*, *T. harzianum* and *A. chroococcum*) over untreated check where no bioinoculant was used.

The gradual decrease in microbial population (mostly bacteria and fungi) in control gardens can be attributed to continuous and indiscriminate application of inorganic fertilizers and pesticides. This clearly suggests that, high dose of chemical fertilizers does not support the growth of soil microflora provided that the soil is also supplemented with good amount of organic matter and inoculation of mulberry gardens by various biofertilizers as external source (Bongale and Veeresh, 1996).

Thus, the above findings indicate that the maintenance of various groups of beneficial microorganisms at a desired level in the soil is highly essential for irrigated mulberry, and which is possible only through the approach of INM.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are thankful to Prof. Jayaraj former vice-chancellor of TNAU, Coimbatore, Tamil Nadu, Dr. T.M. Veeraiah, Scientist- E, National Silkworm Seed Organization, all the scientists of CSR & TI, Mysore and RSRS, Kodathi, for the help.

REFERENCES

- ANSHU SINGH; SATYAWATI SHARMA; SINGH, A. and SHARMA, S. (2003) Effect of microbial inocula on mixed solid waste composting, vermicomposting and plant response. *Compost Science and Utilization*, 11: 3, 44; 190-199.
- BONGALE, U. D. and VEERESH, M. (1996) Populations of *Azotobacter*- nitrogen fixing bacteria in mulberry garden soils from Karnataka, India. *Bulletin of Sericultural Research* (Bangladesh), 7: 83-86.
- BUCHANAN, R. E. and GIBBS, N. E. (1975) Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th Edn., The Williams and Wilkins Company, Baltimore, USA.
- CHOWDARY, N. B.; SHARMA, D. D.; NISHITHA NAIK, V. and MALA, V. R. (2004). Rhizosphere microflora of mulberry gardens in relation to age of the plants. *National Symposium on Recent Trends in Applied Biology*, Avinashilingam Deemed University, Coimbatore, Tamil Nadu, India. January 28-29, pp. 60-61.
- * DALLA, G. C. (1986) Experience di lotta biologica contro la fusariosi vascolare del garofano (Trials on the biological control of vascular wilt of carnations). *Annali dell Istituto Sperimentale per la Floricoltura*, 17: 3012.
- DAS, P. K.; MANIVANNAN, V. S.; BHOGESHA, K. and MADHAVA RAO, Y. R. (1998) Studies on microbial decomposition of sericultural wastes. In: *New Trends in Microbial Ecology*. Rai, B. and Dkhar, M. S. (Eds.), Department of Botany, North East Hill University, Shilong and International Society for Conservation of Natural Resources, Varanasi, India, pp. 68-75.
- EARANNA, N. and GOVINDAN, R. (2002) Role of biofertilizers in mulberry production- A review. *Indian J. Seric.*, 41(2): 92-99.
- GAONKAR, J. W. and SREENIVASA, M. N. (1994) Effects of inoculation with *Glomus fasciculatum* in conjunction with different organic amendments on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Microbiol. Res.*, 4: 419-423.
- GUPTA, V. P. and SHARMA, D. D. (2004). Induction of systemic resistance in mulberry against leaf spot and leaf rust diseases by utilization of plant growth-promoting rhizobacteria. *Annual Report* (2003-2004), Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, pp. 34-35.
- NIRMALNATH, P. J.; BIRADAR, A. P.; PATIL, A. B. and PATIL, M. B. (2001) Vermicompost microflora as influenced by different crop residues. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 14(1): 168-169.
- PAL, V. and JALALI, I. (1998) Rhizosphere bacteria for biocontrol of plant diseases. *Indian J. of Microbiol.*, 38: 187 - 204.
- RANGASWAMI, G. and MAHADEVAN, A. (1999) *Diseases of Crop Plants in India* (4th Edn.). Prentice Hall of India, Pvt., New Delhi, India.
- RONALD, M. A. (1996) *Principles of Microbiology* (2nd Edn.), W. M. C. Brown Publishers, USA. pp. 745 -746.
- SHARMA, D. D.; GOVINDAIAH; DAS, P. K.; TOMY PHILIP; CHOUDHURY, P. C. and DATTA, R. K. (1994) Influence of bacterial biofertilizers under graded levels of nitrogen on the incidence of major mulberry diseases. *Indian J. Seric.*, 33(1): 31-35.
- SHARMA, D. D.; NISHITHA NAIK, V.; CHOWDARY, N. B. and MALA, V. R. (2003) Soilborne diseases of mulberry and their management - A review. *Int. J. Indust. Entomol.*, 7(4): 93-106.

- * SIKORA, R. A. (1978) Einfluss der endotrophen mycorrhiza (*Glomus mosseae*) auf das Wirt-Parasit-Verhältnis von *Meloidogyne incognita* Tomaten. *Z. Pflkrankh Pflanzenschutz*, 85: 197-202.
- SUBBA RAO, N. S. (1986) Soil microorganisms and plant growth. 2nd Edn. Oxford & IBH publishing Co., Pvt., Ltd., New Delhi, India, pp. 1-333.
- SUBBA RAO, N. S.; WANG, H. K. and METTING, F. B. Jr. (1992) Composting and organic waste management in China and India. In: *Soil Microbial Ecology*. (Metting, F. B. Jr.). Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 561-576.
- SUDHAKAR, P.; CHATTOPADHYAY, G. N.; GANGAWAR, S. K.; GHOSH, J. K. and SARATCHANDRA, B. (1999) Variation in the population of nitrogen fixers and other microflora in the phylloplane and rhizosphere of mulberry (*Morus alba*) as influenced by shoot age and season. *Sericologia*, 39(4): 617-623.
- TINKER, P. B. (1984) The role of microorganisms in mediating the uptake of plant nutrients from soil. *Plant and Soil*, 76: 77-92.
- 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, Minnesota, pp. 213-235.
- WAKSMAN, S. A. (1927). *Principles of Soil Microbiology*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA.
- * not seen original

EFFET DE LA GESTION INTEGREE DES NUTRIMENTS SUR LA MICROFLORE DU SOL DES MURAIES IRRIGUEES

JAISHANKAR & S. B. DANDIN*

Regional Sericultural Research Station, Carmelram post, Kodathi, Bangalore – 560 035, Inde.

Les études récentes sur l'état nutritionnel du sol des muraies ont montré que les sols commencent à manifester des signes de faible quantité de carbone organique et un passage progressif du pH du sol de conditions neutres à alcalines et d'alcalines à très alcalines. Ces conditions ont aussi entraîné des carences courantes en macro et en micro nutriments, tout en diminuant la population de la microflore surtout la bénéfique. Dans ce contexte, l'approche de « Gestion Intégrée des Nutriments » (INM) qui est la science et la philosophie d'inverser les effets néfastes provenant de l'exploitation des nutriments du sol et de la disparition de la microflore bénéfique afin de promouvoir une agriculture durable est nécessaire. On a entrepris une étude sur l'impact de l'INM à base d'engrais vert de chanvre crotalaire (*Crotalaria juncea*), de compost enrichi et de vermicompost, d'apports biologiques, c'est-à-dire d'*Azotobacter* (*Azotobacter chroococcum*), de micro-organismes solubilisant le phosphate (PSM) (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*) et de micorhizes arbusculaires vésiculaires (VAM) (culture mélangée de *Glomus mosseae* et de *G. fasciculatum*) en conjonction avec une application de doses réduites (50 %) d'engrais non organiques (d'après les recommandations du **Central Sericultural Research and Training Institute (CSR&TI)** de Mysore sur la microflore de la zone de la racine ainsi que sur la rhizosphère des muraies. Les résultats montrent qu'il y a une amélioration significative de la population microbienne du sol, surtout de celle qui appartient aux groupes bénéfiques et saprophytes chez les muraies traitées, par comparaison au témoin.

En tout, on a isolé 22 formes de microflore de la rhizosphère du sol dans les muraies, parmi lesquelles 17 appartiennent aux champignons, 4 aux bactéries et l'une aux actinomycètes. D'après leur présence et leur abondance, bien que la microflore bénéfique, c'est-à-dire *Azotobacter* spp. et *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *Bacillus subtilis*, *Verticillium chlamydosporium*, *Streptomyces* spp. et *Pseudomonas fluorescens* soient régulièrement présentes dans toutes les parcelles traitées, les deux premières s'avèrent les plus abondantes. Cela pourrait être dû à l'effet synergétique de la co-inoculation des *Azotobacter*, des PSM, des VAM, en plus de l'application d'engrais organiques, tels que le vermicompost, les engrais verts et de la diminution de 50 % de la dose recommandée d'engrais chimiques. Dans cette étude, les formes dominantes de la microflore nuisible que l'on observe sont *Fusarium solani*, *F. oxysporum* et *Lasiodiplodia theobromae*. Le maintien de groupes variés de micro-organismes bénéfiques à un niveau particulier dans le sol est vraiment impératif pour le mûrier irrigué et cela est possible grâce à l'approche INM.

INTRODUCTION

La croissance durable des plantes est fortement influencée par les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, qui déterminent la santé du sol, qui dépend à son tour de la croissance et de l'activité de la microflore présente dans la rhizosphère du sol. La rhizosphère est un habitat dynamique qui abrite un ensemble de microbes avec différents types de réponses métaboliques et d'adaptation.

* National Silkworm Seed Organization, Central Silk Board, CSB Complex, Madivala, Bangalore – 570 068, Inde.

Les interactions synergétiques entre les plantes et les microbes sont importantes pour répondre à leurs besoins nutritionnels à tous les deux. La rhizosphère du sol est en contact étroit avec les racines des plantes et elle exerce une influence directe sur les microbes bénéfiques / nuisibles, surtout sur les bactéries / les champignons et Ronald (1996) a appelé ce phénomène « effet de la rhizosphère ». Lors de l'application d'engrais et d'autres produits chimiques agricoles, de nombreux microbes nuisibles provoquant des maladies chez les plantes, en particulier pour les racines, l'emportent en nombre sur les microbes bénéfiques dans les sols. La microflore bénéfique telle que les bactéries, les champignons et les actinomycètes joue un rôle décisif dans le sol, en tant qu'agents de la décomposition de la matière organique, pour la formation d'agrégats du sol, pour la fixation de l'azote, pour la mobilisation des nutriments inorganiques, pour la participation à l'association micorrhizienne, pour l'induction de la résistance systémique chez les plantes contre les nuisibles et les maladies, etc.. (Subba Rao, 1986).

D'après les informations disponibles, il est devenu impératif que les trois catégories de microflore du sol, c'est-à-dire les bactéries, les champignons et les actinomycètes jouent un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème comme l'ont suggéré Pal et Jalali (1998). Les facteurs qui affectent la population de la microflore dans le sol sont la disponibilité en oxygène, le pH, les pratiques agricoles, l'application d'engrais et de pesticides, et les amendements organiques. L'amélioration de la population de micro-organismes dans le sol est aussi une manière d'augmenter la fertilité, ce qui augmente la productivité. N'importe quel changement dans le sol se reflète immédiatement sur la population de la microflore du sol et à son tour sur la productivité. Une fois que la population nécessaire s'est développée, son activité continue pendant de nombreuses années dans le sol, jusqu'à atteindre un niveau optimal de population et une inoculation supplémentaire pourrait ne pas être nécessaire (Subba Rao, 1986). Il est donc impératif de stabiliser cette microflore bénéfique dans l'environnement du sol pour améliorer la fertilité du sol, qui contribue dans une large mesure au rendement et à la qualité durables de la feuille de mûrier (Earanna et Govindan, 2002).

Plusieurs chercheurs ont étudié la microflore de la rhizosphère en rapport avec la croissance et l'âge des plants de mûrier (Sudhakar et coll., 1999 ; Chowdary et coll., 2004). Il devient donc impératif de comprendre l'effet de l'amendement du sol avec des engrais verts, des engrais biologiques bactériens (*Azotobacter*), des PSM, des VAM, du compost enrichi et du vermicompost sur la microflore (champignons, bactéries et actinomycètes) dans la rhizosphère du mûrier irrigué.

Les connaissances sur la présence de microflore bénéfique / nuisible dans la rhizosphère des mûraies pourraient permettre de décider de la quantité nécessaire (dose) d'engrais organiques à appliquer. A cet égard, les informations sont très rares, surtout chez le mûrier. Jusqu'à présent on n'a pas essayé d'étudier l'effet de la microflore bénéfique du sol, après l'application de tous les apports organiques (engrais verts, compost / vermicompost) et biologiques en conjonction avec une diminution (50 %) de la dose d'engrais non organiques, c'est-à-dire dans le cadre d'une gestion intégrée des nutriments (INM).

MATERIELS ET METHODES

On a entrepris les études (2002-2005) dans trois groupes de villages, c'est-à-dire à Hosapet, à Becchagondanahalli et à Chowdadenahalli dans la zone de Kolar, dans l'état du Karnataka en Inde. Sur les 45 fermiers (15 de chaque groupe) identifiés pour l'étude, on en sélectionne 30 (10 de chaque groupe) avec 0,2 à 0,4 ha de la variété de mûrier améliorée V1 pour le traitement INM d'après leur disposition à adopter les pratiques intégrées et aussi d'après la pertinence de leurs propriétés. On laisse les 15 fermiers qui restent (5 de chaque groupe) avec la même étendue de la variété améliorée continuer leurs pratiques conventionnelles (témoin). On ne peut pas maintenir un nombre égal entre les fermiers sélectionnés pour le traitement INM et entre les fermiers témoins, en raison de l'hétérogénéité des plantations de mûrier et du statut économique des fermiers. On essaie donc de choisir les fermiers qui cultivent principalement la variété V1 avec un espacement plus large et un statut socioéconomique comparable. Cela minimise aussi les erreurs lors de l'analyse de l'impact de l'INM à la fin de la période d'étude. On entreprend aussi une étude similaire simultanément à la

Station Régionale de Recherche sur la Sériciculture (RSRS) de Kodathi, dans le cadre du CSR&TI de Mysore, en Inde, sur 0,40 ha de muraie V1, dont 50 % sont pris en considération pour le traitement INM et les 50 % restants comme témoin avec les pratiques recommandées.

On estime les bactéries, les champignons et les actinomycètes en déterminant le nombre d'unités formant des colonies / s (cfu / s) par gramme de sol sur une base annuelle, de manière à surveiller l'accumulation de la population microbienne dans la rhizosphère des champs traités par INM et dans les champs témoins. Pour réaliser l'expérience, on suit les mesures suivantes. Avant le recueil des échantillons de sol, les outils comme la pelle, le sécateur, la pioche, etc.. sont stérilisés avec une solution de formol à 5 % et on les sèche au four à 50° C pour éviter la contamination. On stérilise l'équipement en verre dans un four à air chaud à 250° C pendant une heure.

i) Recueil des échantillons de sol dans l'habitat de la rhizosphère :

On sélectionne 25 plants au hasard dans le terrain de chaque fermier, on recueille les échantillons de sol proche des racines à 15-30 cm de profondeur dans des sacs en polyéthylène stérilisés. On procède à l'étiquetage de ces plants en marquant les échantillons de sol recueillis, à partir de la 2^{ème} année et pendant les années suivantes. Pour la préparation d'échantillons groupés, les 25 échantillons de sol recueillis sur le terrain de chaque fermier sont mélangés séparément.

ii) Isolement des microbes de l'habitat de la rhizosphère :

On isole la microflore présente dans le sol grâce à la technique de dilution des plaques (Waksman, 1927). On sèche l'échantillon de sol mélangé de chaque répétition à l'air et on le tamise au travers d'une maille de 2 mm et on stocke le sol fin dans des sacs en polyéthylène stérilisés. On met en suspension dix grammes de sol dans 90 ml d'eau distillée stérilisée dans des flacons Erlenmeyer de 250 ml et on les agite soigneusement pour obtenir une dilution de 1 : 10. On laisse les flacons reposer pendant 20 à 30 mn pour que les particules du sol se déposent. Puis on transfère un millilitre de la solution 1 : 10 dans un tube à essai stérilisé contenant 9 ml d'eau distillée stérilisée. On répète le processus plusieurs fois pour obtenir une dilution finale de 1 : 10 000.

iii) Préparation des milieux de culture microbiens et versement des milieux sur les plaques :

On prépare les différents milieux de culture, c'est-à-dire l'agar de dextrose de pomme de terre, l'agar agar et l'agar d'actinomycètes pour l'isolement respectivement des champignons, des bactéries et des actinomycètes. On pèse les quantités nécessaires d'ingrédients pour les milieux respectifs sur une balance électronique et on les place dans des flacons coniques stérilisés. On mélange les ingrédients soigneusement avec la quantité nécessaire d'eau distillée. On couvre l'embouchure de chaque flacon contenant les ingrédients avec du coton stérilisé et une couche de papier aluminium pour éviter la contamination. Puis, on stérilise les bouchons contenant les différents milieux à 137,89 kPa (approximativement à 120° C) en utilisant un autoclave vertical et on les refroidit à température ambiante.

On mélange cinq millilitres de la dilution finale de chaque échantillon de rhizosphère avec 100 ml de milieu tiède respectif et on les verse dans cinq boîtes de Petri à raison de 20 ml / plaque séparément. Puis, on retourne les boîtes de Petri et on les incube à $28 \pm 2^\circ \text{C}$ pour la croissance des champignons et des actinomycètes pendant sept jours dans un incubateur BOD, tandis que pour les bactéries on incube les plaques à 30° C pendant 2 à 3 jours.

Après l'incubation, on enregistre la croissance des champignons, des bactéries et des actinomycètes et on calcule la population en termes de cfu / g de sol.

iv) Examen macroscopique de la microflore :

On observe d'abord toutes les colonies qui se sont développées à la surface de l'agar dans les différentes boîtes de Petri de manière macroscopique. La croissance solide boursouflée sur le milieu indique la présence de champignons, tandis que la croissance aqueuse indique la présence de bactéries.

Cependant les actinomycètes apparaissent sur le milieu comme une colonie brillante sous la forme de pustules (comme des perles) de différentes couleurs (blanches, grises, laiteuses, etc...)

v) Examen microscopique de la microflore :

On colore d'abord les bactéries avec la méthode gram d'après la description de Buchanan et Gibbs (1975). A cet effet, on prépare de petites quantités de cellules bactériennes à partir de colonies de 3 à 4 jours sur des lames microscopiques, en étalant les cellules bactériennes en utilisant une goutte d'eau stérilisée et on les sèche à l'air. Puis on inonde les cellules bactériennes avec une solution d'oxalate d'ammonium et de violet cristal (0,8 g d'ammonium d'oxalate dissous dans 80 ml d'eau distillée et mélangée avec 2 g de violet cristal ayant 90 % de teneur en colorant, dissous dans 20 ml d'alcool éthylique à 95 %) pendant une minute. On lave les lames sous l'eau du robinet pendant 2 secondes et on les immerge dans une solution d'iode (1 g d'iode + 2 g d'iodure de potassium dissous dans 300 ml d'eau distillée) pendant une minute et on les lave à nouveau sous l'eau du robinet jusqu'à ce que l'excès de colorant disparaisse. Puis, on inonde les lames d'éthanol à 95 % pendant 30 secondes pour les décolorer et on les contre colore avec de la solution rouge safran pendant 30 secondes. Finalement, on lave les lames sous l'eau du robinet et on les sèche avec du papier buvard pour les examiner au microscope. On examine toutes les lames sous un microscope binoculaire Leica à contraste de phase de haute résolution pour identifier les bactéries sur la base de la réaction gram en tant que gram-ve et gram +ve.

On identifie les champignons sur la base de leurs caractéristiques morphologiques, qui sont les structures végétatives et reproductives y compris la forme, la taille, la couleur et la disposition / l'attachement des spores sur les sporophores des corps fructifères. On examine ces structures directement sous un microscope après la préparation des lames fixées. Plus tard, on étale les hyphes fongiques en couche fine sur du lactophénol et on les recouvre avec une lamelle couvre-objet pour les observer sous un microscope. On regroupe tous les caractères morphologiques et on les compare avec ceux des groupes de champignons connus.

On identifie les actinomycètes qui se sont développés sur les plaques, sur la base des caractères des colonies, tels que la structure de la croissance sur le milieu agar. Plus tard, on note les caractères du sporophore grâce à un examen microscopique direct, après la préparation de la lame. D'après la morphologie des sporophores (droits, flexibles, retinaculum apertum, spira, etc..) on confirme les genres des actinomycètes. On compare aussi les microbes identifiés (champignons, bactéries et actinomycètes) dans cette étude avec la Banque de Recueil des Cultures Pathologiques du Mûrier, du CSRTI de Mysore, pour la confirmation de leur identité.

vi) Classement et fréquence des microflore isolées :

Après l'isolement et l'identification des microflore dans les habitats de la rhizosphère, on les classe d'après leurs comportements en trois groupes : c'est-à-dire bénéfiques, nuisibles et saprophytes. On calcule l'augmentation (+) ou la baisse (-) de la microflore bénéfique / nuisible / saprophyte dans le sol traité, par rapport au témoin (pratiques des fermiers / recommandations du CSRTI à la ferme de la RSRS).

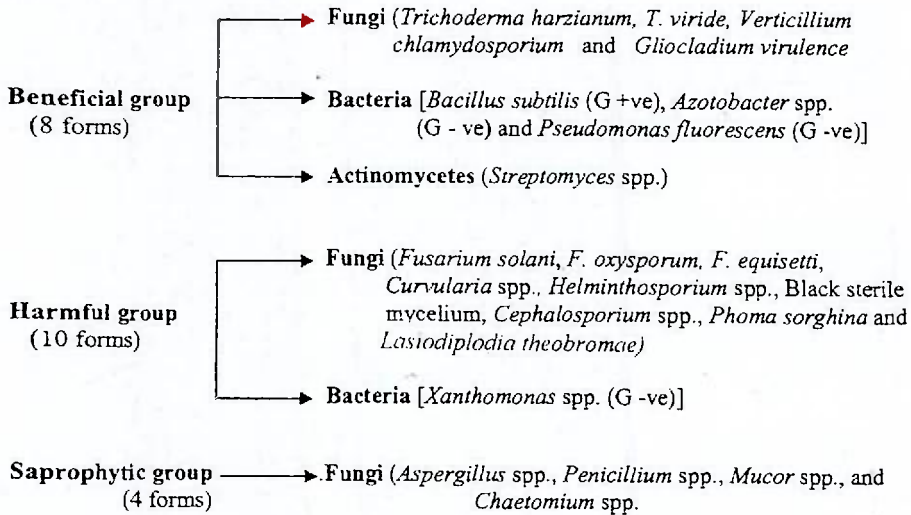
On calcule les pourcentages d'abondance et de fréquence des formes variées de la microflore en utilisant la formule appropriée. D'après leur fréquence (%), on exprime aussi les formes individuelles des microflore comme dominantes, courantes, fréquentes et occasionnelles (Das et coll., 1998).

RESULTATS

Les données sur la microflore du sol (champignons, bactéries et actinomycètes) (Tableau I) révèlent qu'en général, la population totale augmente significativement grâce à la pratique de l'INM par comparaison au témoin. On observe que la population de microflore nuisible est significativement plus élevée dans les sols avant l'application d'engrais biologiques (*Azotobacter*, PSB et VAM) et organiques variés, tandis que les populations de microbes bénéfiques et saprophytes sont minimales.

Après l'application d'engrais biologiques et organiques variés, de manière intéressante, les populations de microflore nuisible baissent significativement et celles de microbes bénéfiques et saprophytes augmentent significativement.

En tout, on isole 22 formes de microflore dans le sol de la rhizosphère dans les muraies. Parmi elles, 17 appartiennent aux champignons, 4 aux bactéries et une aux actinomycètes. Par ailleurs, on classe ces microflores d'après leur comportement (traits caractéristiques) en trois groupes, c'est-à-dire microbes bénéfiques, nuisibles et saprophytes d'après la description ci-dessous :



D'après leur présence et leur abondance, bien que les microflores bénéfiques, c'est-à-dire *Azotobacter* spp. et *T. harzianum*, *T. viride*, *B. subtilis*, *V. chlamydosporium*, *Streptomyces* spp., et *P. fluorescens* soient régulièrement présentes dans toutes les parcelles traitées des fermiers et dans la ferme RSRS, les deux premières s'avèrent les plus abondantes. Le même groupe de microflore est moins abondant et prédomine occasionnellement dans les parcelles témoins.

Les formes dominantes dans le sol de la rhizosphère des parcelles témoins dans les muraies des fermiers et dans la ferme RSRS incluent les groupes nuisibles tels que *F. solani*, *F. oxysporum*, *L. theobromae* et *Xanthomonas* spp. On observe que le reste des formes dans ce groupe (*F. equiseti*, *Curvularia* spp., *Helminthosporium* spp., le mycélium stérile noir, *Cephalosporium* spp., *Phoma sorghina*) est occasionnellement ou rarement présent. Chez les groupes saprophytes, on observe que toutes les formes comme *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., et *Chaetomium* spp sont courantes et fréquentes à la fois dans les parcelles traitées et témoins (Tableau II).

DISCUSSION

L'activité vigoureuse de la microflore du sol est un indicateur important de la fertilité du sol et de la santé du sol. La population microbienne varie considérablement en fonction du type de sol et des pratiques culturales et de l'utilisation d'engrais non organiques. Dans cette étude, il y a une amélioration significative de la population microbienne du sol, surtout de celle qui appartient aux groupes bénéfiques et saprophytes dans les terrains traités de la RSRS et dans les terrains des fermiers,

par comparaison au témoin. Cela pourrait être dû à l'effet synergétique de la co-inoculation des *Azotobacter*, des PSM et des VAM, en plus de l'application d'engrais organiques tels que le vermicompost, les engrais verts et à la diminution de la dose recommandée d'engrais chimiques de 50 % (dose recommandée de 350 : 140 : 140 NPK kg / ha / an). De plus, l'augmentation du nombre de colonies de la microflore bénéfique, surtout de *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp., *Penicillium* spp et *Aspergillus* spp., grâce à l'application d'engrais biologiques et organiques variés permet à la microflore de co-exister dans la rhizosphère du mûrier et d'équilibrer la population dans la nature.

On a signalé que les formes dominantes de microflores nuisibles, telles que *F. solani*, *F. oxysporum* et *L. theobromae* observées dans cette étude, provoquent les maladies de la pourriture de la racine et du flétrissement chez de nombreuses cultures, y compris chez le mûrier (Sharma et coll., 2003). *Helminthosporium* spp et *Xanthomonas* spp que l'on a enregistré dans cette étude entraînent des types variés de maladies, comme le chancre de la tige, la flétrissure, etc.. chez certaines cultures (Rangaswami et Mahadevan, 1999). Par ailleurs, les formes dominantes et fréquemment présentes telles qu'*Azotobacter* spp., *B. subtilis*, *T. harzianum* et *V. chlamydosporium* appartenant aux groupes bénéfiques, augmentent dans le sol de la rhizosphère grâce à l'application d'engrais biologiques et organiques variés, qui contribuent peut-être à la transformation microbienne de nombreux nutriments complexes en formes plus simples et disponibles, ce qui améliore la croissance et le rendement foliaire du mûrier. Parmi les formes ci-dessus, on recommande *T. harzianum* et *V. chlamydosporium* pour lutter contre la pourriture de la racine en pépinière et contre les maladies du nématode de la racine chez le mûrier (Sharma et coll., 2003). Par ailleurs, on utilise *Azotobacter*, *B. subtilis* et *P. fluorescens* comme promoteurs de croissance pour induire la résistance systémique chez des plantes variées y compris chez le mûrier (Gupta et Sharma, 2004). Dans le cas des groupes saprophytes, les champignons comme *Aspergillus* spp. et *Penicillium* spp. qui sont fréquemment présents et dominant, sont bien connus pour la production d'antibiotiques divers, qui protègent aussi les racines des plantes de certains types de pathogènes (Pal et Jalali, 1998).

Les espèces de *Trichoderma* inhibent la croissance des pathogènes par l'hyperparasitisme, la concurrence et l'antibiose. Pendant l'antibiose, on sait aussi que *Trichoderma* produit des enzymes hydrolytiques et des composés antifongiques comme les chitinases, le trichodermin et le gluconase, qui dissolvent la paroi cellulaire des champignons pathogènes, ce qui entraîne l'arrêt de la croissance (Tronsmo, 1996). On sait que les VAM produisent des acides aminés variés, des composés phénoliques, et des phytohormones variés (Tinker, 1984) et induisent aussi certains changements physiologiques et biochimiques chez les plantes hôtes, qui restreignent l'infestation et la multiplication des pathogènes de la racine, comme l'a rapporté Sikora (1978). On a aussi rapporté que les *Azotobacter* produisent des hormones de croissance et des vitamines comme la gibbérelline, la biotine, l'acide nicotinique etc., qui contribuent à induire la résistance chez le mûrier contre certains pathogènes (Subba Rao et coll., 1992 ; Sharma et coll., 1994). Les bactéries solubilisant le phosphate produisent des métabolites toxiques comme le bulbiformin, la phénazine, les acides organiques, les sidérophores, etc.. qui contribuent à baisser l'infestation par les pathogènes véhiculés par le sol, comme l'a signalé Dalla (1986). Le vermicompost contribue à améliorer la multiplication de microbes bénéfiques variés dans le sol, la prolifération et la colonisation des VAM, tout en apportant des nutriments comme NPK aux plantes (Gaonkar et Sreenivasa, 1994).

Les résultats de cette étude montrent aussi que le compost / le vermicompost obtenus en utilisant des matériaux bruts, y compris les résidus agricoles et séricicoles, s'avèrent supérieurs en termes d'unités formant des colonies par rapport aux autres matériaux bruts. Lors de l'évaluation de la microflore de différents résidus de récolte, Nirmalnath et coll., (2001) ont signalé que le vermicompost obtenu à partir de bouse de vache donne la charge la plus élevée en microbes : bactéries (73×10^5), champignons (18×10^3), actinomycètes (100×10^4), *Azotobacter* ($40,67 \times 10^4$) et PSB (29×10^4). Anshu Singh et coll., (2003) ont aussi enregistré une différence significative de la qualité du compost produit avec des inoculants biologiques (*Pleurotus sajorajju*, *T. harzianum* et *A. chroococum*), par rapport au témoin non traité, chez qui on n'utilise aucun inoculant biologique.

On peut attribuer la baisse progressive de la population microbienne (principalement des bactéries et des champignons) dans les jardins témoins à l'application continue et à tort et à travers d'engrais et de pesticides non organiques. Cela suggère clairement qu'une dose élevée d'engrais chimiques ne favorise pas la croissance de la microflore du sol, il faut aussi que le sol soit enrichi avec une grande quantité de matière organique et que les muraies soient inoculées avec une source externe d'engrais biologiques variés (Bongale et Veeresh, 1996).

Les résultats ci-dessus indiquent donc que le maintien de différents groupes de micro-organismes bénéfiques à un niveau désiré dans le sol est absolument indispensable chez le mûrier irrigué et cela n'est possible que par l'approche INM.

PERFORMANCE OF INDOOR REARING UNDER DIFFERENT FEEDING FREQUENCY IN TROPICAL TASAR SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY

G. S. SINGH*, S. S. RATH, S. S. SINGH & M.K. SINGH

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, Jharkhand, India.

Tasar silkworm Antheraea mylitta D. is a polyphagous insect and is reared out door on the food plant like Terminalia arjuna, Terminalia tomentosa, Shorea robusta. Productivity of cocoon in out door rearing is poor due to attack of number of pests and predators besides natural vagaries such as, wide fluctuating temperature, heavy rain and stormy wind etc. Attempts were made in the past to increase the cocoon production by adopting various methods of indoor rearing particularly for early instar worms and also by improving the rearing conditions. The present study of indoor rearing was conducted in wooden tray supported with wooden rearing frames specially designed for young age and late age silkworms. Trials were taken up to determine optimum number of feeds per day for indoor rearing of tasar silkworm. Three feed per day resulted in significantly higher effective rate of rearing (35% and 30 % during I and II crop respectively). Significant increase in commercial characters (cocoon weight and shell weight) was observed under three feedings condition compared to other feeding treatments.

Keywords: *Antheraea mylitta*, indoor rearing, wooden rearing frame

INTRODUCTION

The tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D is a polyphagous insect. It is commercially reared out doors on its primary food plants, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, and *Shorea robusta*. Traditional rearing method of tasar silkworm on nature grown forest plantations has many disadvantages like erratic climatic conditions, lack of watch and ward and free access to parasites, pathogens and predators which lead to extremely low returns. There is heavy population loss to the tune of 50-55% in early instars due to pests and predators attack during out door rearing condition but during indoor rearing early instars loss can be reduced (Jolly *et al.*, 1974, 1979, Mathur *et al.*, 1999). It is pertinent to ensure higher recovery which is possible only in rearing the silkworm under controlled condition. Domestication of silkworm *i.e.* the indoor rearing technique at the Institute level has been tried by many scientists to study the nutritional ecology (Rath *et al.*, 1999; Ojha *et al.*, 2000; Sinha *et al.*, 2000). But works are still required to standardize the indoor rearing technique for domestication of silkworm for higher survivability. Insects attain their functional optima through intake and growth target (Raubenheimer and Simpson, 1999) and any change in intake and growth targets will lead to physiological disturbance affecting its performance level. Keeping this in view, the present study was carried out in the aim of finding out optimum number of feeds/day to meet the consumption level for better growth, development and cocoon production of tasar silkworm in indoor condition.

* Corresponding author E-mail: jayaraj625@yahoo.co.in

MATERIALS AND METHOD

The experiment was conducted at Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, Jharkhand during July to October.

a. The rearing tray:

Specially designed wooden trays (90 cm L × 60 cm l × 10 cm H), with wire meshed bottom were used for early and late instar rearing. Wooden rearing frame of smaller size (30 cm L × 30 cm l × 8 cm H) (Fig. 1) was provided for young age (up to II instar) rearing, while rearing frame of bigger size (75 cm L × 45 cm l × 10 cm H) (Fig. 2) was provided for late age rearing (III instar onwards). Newspapers were used on the bottom of the tray for absorbing the litter moisture. Trays were arranged on the bamboo racks inside the rearing room (Fig. 3). Temperature (25-28 °C) and relative humidity (75-85 %) were maintained inside the rearing room.

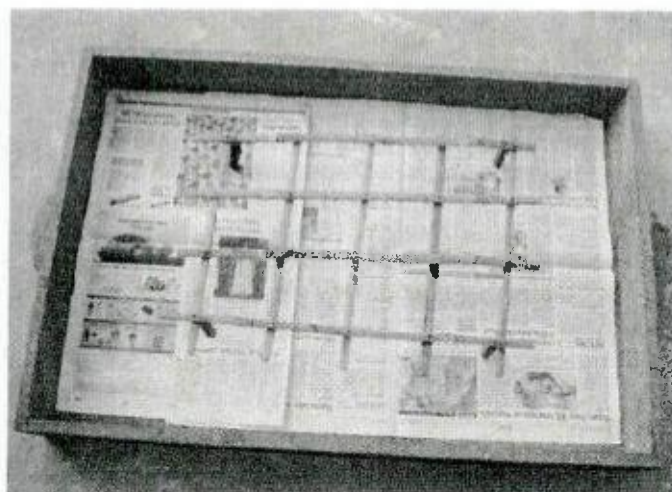


Fig. 1. Rearing tray with wooden frame of smaller size (30 cm L × 30 cm W × 8 cm H).

Fig. 1. Claie d'élevage avec un cadre en bois de plus petite taille (30 cm L × 30 cm l × 8 cm H).

b. Rearing technique:

Antheraea mylitta (Lepidoptera: Saturniidae; Daba bi-voltine eco-race) larvae (fresh and healthy) hatched during the first week of July (I Crop) and first week of September, 2006 (II crop) were taken for the experiments.

Entire process of rearing was conducted in a pre-disinfected rearing room. On the day of hatching, the eggs were transferred from incubator to disinfected rearing tray. The hatched worms were fed with tender leaves (except the two whorls of apical leaves) of *Terminalia arjuna* (Arjun). All the rearing trays were kept on rearing rack separately treatment-wise. Young age rearing was conducted on small size rearing frame and during the late age worms were transferred on to the large size rearing frame. Bed cleaning was carried out every day morning by replacing the news paper along with litters and dead worms. During the whole process of rearing hygiene was maintained.

c. Feeding treatments:

Four feeding trials were taken up by providing different number of feeds per day as follows:

- T1- Only one feeding in a day at 9 AM
- T2- Two feeds a day at 8 AM, and 6 PM
- T3- Three feeds a day at 8 AM, 1PM, and 6 PM
- T4- Four feeds in a day 6 AM, 10 AM, 2 PM and 6 PM
- T5- Control (Out door rearing on economic plantation)

Each treatment has four replications and each with two hundred worms.

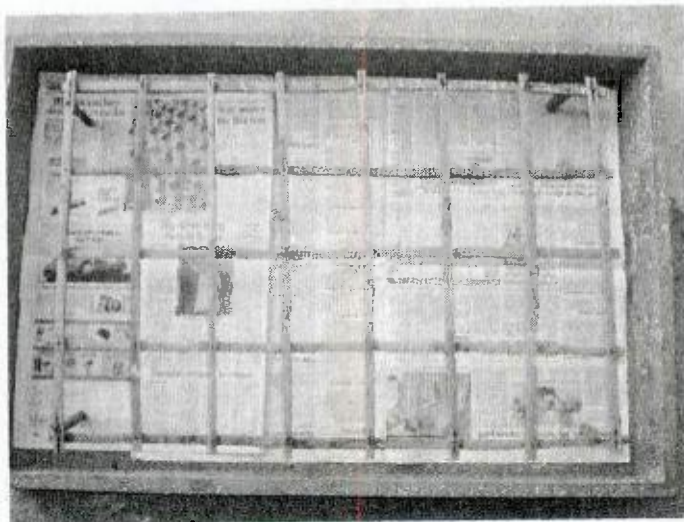


Fig. 2. Rearing tray with wooden frame of bigger size (75 cm L × 45 cm W × 10 cm H)

Fig. 2. Claie d'élevage avec un cadre en bois de plus grande taille (75 cm L × 45 cm l × 10 cm H).



Fig. 3. Rearing tray arrangement in the wooden rack.

Fig. 3. Disposition des claies d'élevage dans le casier en bois.

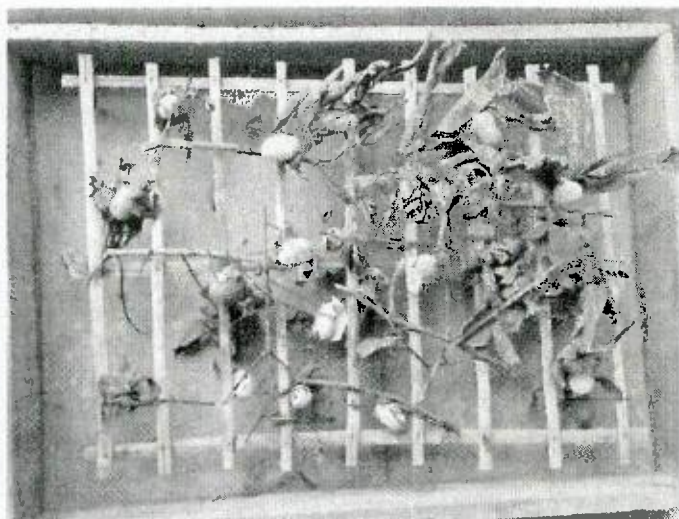


Fig. 4. Spinning in the rearing tray.

Fig. 4. Filage dans la claie d'élevage.

d. Spinning:

At the end of the fifth instar the feeding stops. The larva attains maturity and the weight and size of the larva reach their peak. Soon the larva discharges the last excreta (gut purging) and empties its gut. It indicates that the larva is ready to spin the cocoon. At this moment these worms were selected and placed in separate tray for smooth spinning. In spinning tray sufficient leaves along with twigs were kept for making hammock and ring. During the process cocooning worms were not disturbed. Cocoons were harvested after 10 days and they were tied to form a garland and stored in the cocoon cage.

During the experiment data on effective rate of rearing and commercial characters of the cocoon were recorded and were statistically analysed using analysis of variance (ANOVA).

RESULTS

The results are depicted in Tables I and II. Increased in frequency of feeding to 3 feeds/day (T3) significantly enhance the ERR% in both the crops. The ERR% increased by 34.6% over T5 (control: outdoor rearing) and 94.4% over T1 (one feed/day) during I crop rearing. When one feed/day was maintained (T1) the ERR% declined by 50% over T5 and 150% over T3 during II crop rearing. ERR% in T3 recorded and increase of 25% over T5 during II crop rearing. Based on pool data the ERR% in different treatment can be arranged in to the following order $T3 > T2 > T5 > T4 > T1$

In contrast, T5 always registered higher values for commercial characters in both the crops. The cocoon weight and shell weight in first crop in T3 remains higher than that of T1, T2 and T4 but did not differ statistically from T5; but in II crop T5 registered significantly higher cocoon weight and shell weight followed by T3 compared to others treatment groups. In all the cases T1 has registered low values of cocoon weight and shell weight, while SR% did not change statistically.

Table I. Effect of frequency of feeding on rearing performance.

Tableau I. Effet de la fréquence des repas sur la performance d'élevage.

Treatments	Effective Rate of Rearing (%)		Pooled Mean	Performance of II crop over I crop
	I Crop	II Crop		
	Taux Effectif d'Elevage (%)			
Traitements	Récolte I	Récolte II	Moyenne regroupée	Performance de la 2ème récolte par rapport à la 1 ^{ère} récolte
T1 (One feed/day / Un repas par jour)	18 (− 30.8%)	12 (− 50%)	15.0	− 33.3%
T2 (Two feeds/day / Deux repas par jour)	30 (15.4%)	24 (0.0%)	27.0	− 20%
T3 (Three feeds/day / Trois repas par jour)	35 (34.6%)	30 (25%)	32.5	− 14.3%
T4 (Four feeds/day / Quatre repas par jour)	28 (7.7%)	21 (−12.5%)	24.5	− 25%
T5 Control (Out door rearing) Témoin T5 (Elevage à l'extérieur)	26	24	25.0	− 7.7%
C.D. at 5 % / DC à 5 %	4.10	4.47	4.85	

Figures in parentheses indicate change over control / Les chiffres entre parenthèses indiquent le changement par rapport au témoin.

Table II. Effect of frequency of feeding on commercial characters of cocoons.

Tableau II. Effet de la fréquence des repas sur les caractères commerciaux des cocons.

Treatments	Cocoon weight (g)			Shell weight (g)			Silk ratio (%)		
	I Crop	II Crop	Mean of two crops	I Crop	II Crop	Mean of two crops	I Crop	II Crop	Mean of two crops
	Poids du cocon (g)			Poids de la coque (g)			Richesse soyeuse (%)		
Traitements	1ère Récolte	2ème Récolte	Moyenne des deux récoltes	1ère Récolte	2ème Récolte	Moyenne des deux récoltes	1ère Récolte	2ème Récolte	Moyenne des deux récoltes
T1	09.12	09.33	09.22	0.95	1.10	1.02	10.41	11.78	11.09
T2	10.80	11.21	11.00	1.35	1.40	1.37	12.50	12.48	12.49
T3	11.85	11.95	11.90	1.52	1.54	1.53	12.82	12.88	12.85
T4	10.22	10.12	10.17	1.24	1.22	1.23	12.13	12.05	12.09
T5	12.25	12.85	12.55	1.65	1.74	1.69	13.46	13.54	13.50
C.D. at 5%	0.93	0.64	0.79	0.16	0.12	0.14	NS	NS	NS

The ERR% during II crop rearing (irrespective of condition) remains significantly at lower level than that of I crop rearing. While the decline in ERR% in T5 was recorded lowest (7.7%), it was high for T1 (33.3%), followed by T4, T2 and T3. The commercial characters of cocoons did not differ statistically among I and II crop rearing.

DISCUSSION

The success obtained in the present attempt at indoor rearing up to cocooning was due to the introduction of wooden rearing frame. Such special type support was not used in earlier attempts for rearing of *A. mylitta* (Jolly *et al.*, 1972, 1974, 1979; Thangavelu and Sahu, 1983; Tikoo and Singh, 1990; Thangavelu *et al.*, 1993; Ojha *et al.*, 1994). Rearing till cocoon formation was conducted in wooden tray having specially designed frames to facilitate cocooning and restrict the worm inside the tray (Negi *et al.* 2004 and Prasad *et al.* 2005). Three feed per day (T3) resulted in significantly higher ERR during I and II crop, respectively as against minimum ERR of 18% and 12 %, respectively recorded under one feeding (T1) (Table I). Though in T4 four feeds/day was given the cocoon weight and shell weights were significantly lower than that of control and T3 owing to more handling of the wild silkworms during which feeding of the silkworm was affected along with conversion potential leading to lower cocoon weight and shell weight, however the shell ratio percentage did not change. The survivability of worms has increased following fresh food three times a day. In this method of indoor rearing it was observed that newly hatched larvae remained on leaves feeding them voraciously since the frame is raised from bottom surface of the tray. The frame prevents the leaves from touching the tray of bottom and sides walls, resulting in restriction in migration of worms out of the tray.

Late age worms (from 3rd instar onwards) were reared on the bigger rearing frame because they required larger spaces for their movements and have many advantages. It is provided with 4" height stand at four corners raising it above the tray bottom and silkworm can not touch the tray bottom and sides owing to its size. Bigger frame supports comparatively large quantity of leaves and thus facilitates the bigger larva to feed.

Silkworms passing last excreta were picked up and put in a separate tray over matured leaves kept on late age rearing frame for cocoon spinning. Late age rearing frames was also found very helpful during cocoon formation. The bigger rearing frame provides optimum space for hammock, ring and peduncle formation.

The present study indicates the feasibility of indoor rearing of tasar silkworm *Antheraea mylitta* in wooden tray along with wooden rearing frame up to spinning stage by adopting 3 feeds per day. This method can be adopted for better cocoon production and for conducting various experiments and maintenance of precious germplasm.

REFERENCES

- JOLLY M.S. (1972) A new technique of tasar silkworm rearing. Indian Silk, 11:5-8.
 JOLLY M.S., SEN S. K. and AHSAN M. M. (1974) Tasar culture. Ambika publishers, Bombay, pp.252.
 JOLLY M. S., SEN S. K., SONWALKAR T. N. and PRASAD G.K. (1979) Non mulberry Silks. F.A.O., Agricultural Service Bulletin. 29, pp.54-58., F. A. O. Rome.
 MATHUR S. K., SINGH B. M. K., SINHA A. K. and SINHA B. R. R. P. (1999) Technique for rearing young age tasar silkworm *A. mylitta* D. Indian silk, 35(5):16-21.
 NEGI B.B.S., SINGH G.S. PRASAD B.C., SINHA B.R.R.P., THANGAVELU K. and S. CHAKRABORTI (2004) Indoor rearing of vanya silk tasar silkworm (*Antheraea mylitta* D.) Proceedings of National Workshop on Potentials and Strategies for Sustainable Development of Vanya Silks in the Himalayan States, Dehradun. 8-9 Nov. pp.320-321.

- OJHA N. G., SHARAN S. K., S. K. RAI, and PANDEY P. N. (2000) Studies on sex-wise consumption and utilization of the leaves of different food plants in different ecoraces of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury during fifth instar of first crop. Int. J. Wild Silk moth & Silk, 5: 241-245.
- OJHA N.G., SINHA S.S., SINGH M.K. and SHARAN S. K. (1994) Rearing and cocooning of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* in indoor condition. Int. J. Wild Silk moth & Silk, 1(2): 257-260.
- PRASAD B.C., NEGI B.B.S., SINGH G. S. and SINHA B.R.R.P. (2005) Indoor rearing of tasar Silkworm: A break through. Bulletin of Indian Academy of Sericulture, 9(1): 44-50.
- RATH S.S., SINHA B. R. R. P. AND THANGAVELU K. (1999) Comparative food utilization and adult characters in *Antheraea mylitta* D. fed on different host plants. Proceedings in National Seminar on Tropical Sericulture: Non-mulberry Sericulture, Silk Technology, Sericulture Economics and Extension, Vol. 3, pp 12-16, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore.
- RAUBENHEIMER D. and SIMPSON S. J. (1999) Integrating nutrition: a geometrical approach. Ent. Exp. App. 91: 67-82.
- SINHA U. S. P., BAJPAI C. M., SINHA A. K., BRAMHACHARI B. N. and SINHA, B. R. R. P. (2000) Food consumption and utilization in *Antheraea mylitta* Drury larvae. Int.J. Wild Silk moth & Silk, 5: 182-186.
- THANGAVEU K. and SAHU A. K. (1983) Domestication of Muga silkworm: A major break through in muga culture. Sericologia, 23:153-158
- THANGAVEU K. BAJPEYIC. M. and BANIA H. R. (1993) Indoor rearing of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. In: Wild Silkmoth (Eds. H. Akai, Y. Kato, M. Kiuchi and J. Inouchi), International Society for Wild Silkmoths, pp.99-104.
- TIKKO B.L. and SINGH C. (1990) Studies on the various rearing techniques band there impact on cocoon production in *A. Proylei* J. 1st International Conference on Wild Silk moth. Shenyang, China.

PERFORMANCE D'ELEVAGE A L'INTERIEUR DU VER A SOIE TASAR, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY AVEC DIFFERENTES FREQUENCES D'ALIMENTATION

G. S. SINGH*, S. S. RATH, S. S. SINGH & M. K. SINGH

Central Tassar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi, Jharkhand, Inde.

Le ver à soie tassar, *Antheraea mylitta* D. est un insecte polyphage élevé à l'extérieur sur les plantes hôtes telles que *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa*, *Shorea robusta*. La productivité en cocons est mauvaise avec l'élevage à l'extérieur, à cause de l'attaque par un certain nombre de nuisibles et de prédateurs et à cause des caprices de la nature, tels que les grandes fluctuations de température, les pluies importantes et les vents puissants, etc.. Par le passé, on a essayé d'augmenter la production de cocons, en adoptant différentes méthodes d'élevage à l'intérieur en particulier pendant les premiers âges des vers et en améliorant également les conditions d'élevage. Cette étude sur l'élevage à l'intérieur a été réalisée sur une claie en bois entourée par des cadres d'élevage en bois, spécialement conçus pour les vers à soie des premiers et des derniers âges. Des essais ont été entrepris pour déterminer le nombre optimal de repas par jour pour l'élevage du ver à soie tassar à l'intérieur. Trois repas par jour donnent le taux effectif d'élevage significativement le plus élevé (35 % et 30 % respectivement pendant la 1^{ère} et la 2^{ème} récolte). On observe une augmentation significative des caractères commerciaux (poids du cocon et poids de la coque) avec trois repas, par comparaison aux autres traitements alimentaires.

INTRODUCTION

Le ver à soie tassar tropical *Antheraea mylitta* D. est un insecte polyphage. Il est élevé commercialement à l'extérieur sur ses plantes hôtes primaires, *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa* et *Shorea robusta*. La méthode d'élevage traditionnel du ver à soie tassar dans des plantations forestières naturelles présente de nombreux inconvénients, tels que des conditions climatiques changeantes, l'absence de surveillance et l'accès libre aux parasites, aux pathogènes et aux prédateurs qui génèrent de très mauvais profits. L'élevage à l'extérieur entraîne de lourdes pertes de population de l'ordre de 50 à 55 % pendant les premiers âges à cause de l'attaque par les nuisibles et par les prédateurs, mais on peut diminuer les pertes pendant les premiers âges en pratiquant l'élevage à l'intérieur (Jolly et coll., 1974, 1979, Mathur et coll. ; 1999). Il est légitime de s'assurer d'un rendement plus important en soie, ce qui n'est possible que lorsqu'on élève le ver à soie dans des conditions contrôlées. De nombreux chercheurs ont essayé la domestication du ver à soie, c'est-à-dire la technique de l'élevage à l'intérieur à l'échelle de l'institut pour étudier l'écologie nutritionnelle (Rath et coll., 1999 ; Ohja et coll., 2000 ; Sinha et coll., 2000). Mais, des études sont encore nécessaires pour standardiser la technique d'élevage à l'intérieur pour la domestication et pour une survie plus élevée du ver à soie. Les insectes atteignent leur optimum fonctionnel au travers de leur cible d'absorption et de croissance (Raubenheimer et Simpson, 1999) et n'importe quel changement des cibles d'absorption et de croissance entraîne un dérangement physiologique, ce qui affecte leur niveau de performance. Compte tenu de cela, cette étude a été entreprise dans le but de trouver le nombre optimal de repas / jour pour satisfaire le niveau de consommation qui améliore la

* Email de l'auteur auquel adresser la correspondance : jayaraj625@yahoo.co.in

croissance, le développement et la production de cocons du ver à soie tasar dans des conditions à l'intérieur.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé une expérience au *Central Tasar Research and Training Institute* de Nagri, à Ranchi dans le Jharkhand de juillet à octobre.

a. Claie d'élevage :

On utilise des claies d'élevage (90 cm L × 60 cm l × 10 cm H) avec un fond en grillage spécialement conçues pour l'élevage des premiers et des derniers âges. On utilise un cadre en bois de plus petite taille (30 cm L × 30 cm l × 8 cm H) (Fig. 1) pour l'élevage des premiers âges (jusqu'au 2^{ème} âge), tandis qu'on utilise un cadre de plus grande taille (75 cm L × 45 cm l × 10 cm H) (Fig. 2) pour l'élevage du dernier âge (à partir du 3^{ème} âge). On utilise des journaux au fond de la claie pour absorber l'humidité de la litière. On dispose les claies sur des casiers en bambou à l'intérieur de la pièce d'élevage (Fig. 3). On maintient la température (25-28° C) et l'humidité relative (75 à 85 %) à l'intérieur de la pièce d'élevage.

b. Technique d'élevage :

Pour les expériences, on prend des larves *Antheraea mylitta* (Lépidoptères : Saturniids ; écorace bivoltine Daba) fraîches et saines écloses pendant la première semaine de juillet (1^{ère} récolte) et pendant la première semaine de Septembre, 2006 (2^{ème} récolte).

On réalise tout le processus d'élevage dans une pièce d'élevage pré-désinfectée. Le jour de l'éclosion, on transfère les œufs de l'incubateur à la claie d'élevage désinfectée. On nourrit les vers éclos avec des feuilles tendres de *Terminalia arjuna* (Arjun) (à l'exception des deux rangées de feuilles apicales). On conserve toutes les claies d'élevage séparément en fonction des traitements sur le casier d'élevage. On procède à l'élevage des premiers âges sur un cadre de petite taille et pour l'élevage des derniers âges on les transfère sur un cadre de plus grande taille. On procède au nettoyage de la litière chaque matin en remplaçant les journaux contenant les détritiques et les vers morts. Pendant tout le processus d'élevage, on maintient des conditions d'hygiène.

c. Traitements alimentaires :

On procède à quatre tests d'alimentation en donnant un nombre différent de repas par jour comme suit :

- T1 – Uniquement un repas par jour à 9 heures
- T2 – Deux repas par jour à 8 heures et 18 heures.
- T3 – Trois repas par jour à 8 heures, 13 heures et 18 heures
- T4 – Quatre repas par jour à 6 heures, 10 heures, 14 heures et 18 heures.
- T5 – Témoin (élevage à l'extérieur sur une plantation économique)

Chaque traitement se décline en quatre répétitions de deux cent vers chacune.

d. Filage :

A la fin du 5^{ème} âge, l'alimentation s'arrête. La larve atteint sa maturité et le poids et la taille de la larve atteignent leur pic. Peu après, la larve décharge les derniers excréta (purgeage de l'intestin) et vide son intestin. Cela indique que la larve est prête à filer son cocon. A ce moment, on sélectionne les vers et on les place sur une claie séparée pour un filage harmonieux. Dans la claie de filage, on dispose suffisamment de feuilles avec des brindilles pour la constitution des hamacs et de la couronne. Pendant le processus de formation des cocons, on ne dérange pas les vers. On recueille les cocons au bout de 10 jours, on les attache pour former une guirlande et on les stocke dans une cage à cocons.

Pendant l'expérience, on enregistre les données sur le taux effectif d'élevage et sur les caractères commerciaux du cocon et on les analyse de manière statistique en utilisant l'analyse de variance (ANOVA).

RESULTATS

Les résultats sont présentés dans les Tableaux I et II. L'augmentation de la fréquence des repas à 3 repas / jour (T3) améliore significativement le % ERR pour les deux récoltes. Le % ERR augmente de 34,6 % par rapport à T5 (témoin : élevage à l'extérieur) et de 94,4 % par rapport à T1 (un repas / jour) pendant l'élevage de la 1^{ère} récolte. Quand on procède à un un repas / jour (T1), l'ERR baisse considérablement de 50 % par rapport à T5 et de 150 % par rapport à T3 pendant l'élevage de la 2^{ème} récolte. On enregistre une augmentation du % ERR de 25 % avec T3 par rapport à T5 pendant l'élevage de la 2^{ème} récolte. D'après les données regroupées, on peut classer le % ERR avec les différents traitements dans l'ordre suivant $T3 > T2 > T5 > T4 > T1$.

A l'inverse, T5 enregistre toujours des valeurs supérieures pour les caractères commerciaux avec les deux récoltes. Pour la première récolte, le poids du cocon et le poids de la coque avec T3 demeurent plus élevés qu'avec T1, T2 et T4 mais ne diffèrent pas statistiquement de T5 ; mais pour la 2^{ème} récolte T5 enregistre un poids de cocon et de coque significativement plus élevés, suivi par T3 par comparaison aux autres groupes de traitements. Dans tous les cas, T1 enregistre les valeurs les plus faibles pour le poids du cocon et pour le poids de la coque, tandis que le % RS ne change pas statistiquement.

Le % ERR pendant l'élevage de la 2^{ème} récolte (quelle que soit la condition) demeure à un niveau significativement plus bas que pendant l'élevage de la 1^{ère} récolte. Tandis que la baisse du % ERR est la plus faible (7,7 %) avec T5, elle est élevée avec T1 (33,3 %), suivi par T4, T2 et T3. Les caractères commerciaux des cocons ne diffèrent pas statistiquement entre l'élevage de la 1^{ère} et de la 2^{ème} récolte.

DISCUSSION

Le succès obtenu dans cet essai d'élevage à l'intérieur, jusqu'à la formation des cocons, est dû à l'introduction de cadres d'élevage en bois. Dans les essais précédents d'élevage d'*A. mylitta* on n'avait pas utilisé ce type de support spécial (Jolly et coll., 1972, 1974, 1979 ; Thangavelu et Sahu, 1983 ; Tikoo et Singh, 1990 ; Thangavelu et coll., 1993 ; Ojha et coll., 1994). On a procédé à l'élevage jusqu'à la formation du cocon dans une claie d'élevage avec des cadres spécialement conçus pour faciliter la formation des cocons et contenir les vers à l'intérieur de la claie (Negi et coll., 2004 et Prasad et coll., 2005). Trois repas par jour (T3) donnent un ERR significativement plus élevé pendant respectivement la première et la deuxième récolte, contre un ERR minimum de 18 et 12 % avec un repas (T1) (Tableau I). Bien qu'avec T4, on donne quatre repas / jour, les poids du cocon et de la coque sont significativement plus faibles que ceux du témoin et de T3, car il y a plus de manipulation des vers à soie sauvages, ce qui affecte l'alimentation des vers à soie ainsi que le potentiel de conversion et entraîne un poids de cocon et de coque plus faibles, cependant la richesse soyeuse ne change pas. La capacité de survie des vers augmente grâce à l'apport de nourriture fraîche trois fois par jour. Avec cette méthode d'élevage à l'intérieur, on observe que les larves venant de naître restent sur les feuilles en s'en nourrissant voracement, puisque le cadre est surélevé par rapport au fond de la claie. Le cadre empêche les feuilles de toucher le fond et les parois latérales de la claie, ce qui limite la migration des vers à l'extérieur de la claie.

On élève les vers du dernier âge (à partir du 3^{ème} âge) sur le cadre le plus grand parce qu'ils ont besoin de plus d'espace pour leurs mouvements et parce qu'il présente de nombreux avantages. Il est équipé de pieds de 10 cm de hauteur aux quatre coins, ce qui le surélève par rapport au fond de la claie et de ce fait, le ver ne peut pas toucher le fond et les côtés de la claie compte tenu de sa taille.

Un cadre plus grand permet de contenir comparativement une plus grande quantité de feuilles et cela facilite donc l'alimentation des plus grandes larves.

On ramasse les vers à soie qui se débarrassent des derniers excréta et on les place dans une claie séparée sur les feuilles mûres disposées sur un cadre, afin que les vers du dernier âge filent leur cocon. Les cadres pour le dernier âge s'avèrent très utiles pendant la formation du cocon. Le cadre de plus grande taille fournit un espace optimal pour le hamac, et la formation de la couronne et du pédoncule.

Cette étude indique la faisabilité de l'élevage du ver à soie tassar *Antheraea mylitta* à l'intérieur dans une claie d'élevage en bois avec un cadre en bois jusqu'à l'étape du filage, en adoptant 3 repas par jour. On peut adopter cette méthode pour améliorer la production de cocons et pour réaliser des expériences variées et maintenir un germoplasme précieux.

INTEGRATED MANAGEMENT TO CONTROL UZI FLY, *BLEPHARIPA ZEBINA* WALKER, AN ENDOPARASITOID OF TROPICAL AND TEMPERATE TASAR SILKWORMS

RAM KISHORE*, A. K. DEBNATH AND N. SURYANARAYANA

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

Indian tasar silk, a forest based wild silk, is produced by the silkworm, *Antheraea mylitta* Drury. Tasar silkworm is exposed to attack of various pests, parasites and predators as the rearing is conducted outdoor. Crop loss due to pests and predators has been estimated to the tune of 25-30% resulting in loss of cocoon production and productivity. The major pests of tasar silkworm are *Blepharipa zebina*, *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris* and *Xanthopimpla pedator*, of which the most important pest is Uzi fly, *Blepharipa zebina* Walker. Uzi fly is a tachinid fly and its female lays eggs on silkworm body and after hatching its maggot penetrates into the body of silkworm and feeds on its internal tissues. Final stage maggot comes out by killing the silkworm or pupa, causing considerable economic loss to tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury and temperate tasar silkworm, *A. proylei* Jolly. Bleaching powder and *Nesolynx thymus*, a bio-control agent played a key role in management of tasar uzi fly. Different unilateral control measures have been adopted to control the Uzi fly. The eco-friendly and economic IPM package has been developed at Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, India involving mechanical, chemical (use of bleaching powder solution as ovicide) and biological (release of *Nesolynx thymus*, a bio-control agent to attack immature stages of uzi fly) measures to control Uzi fly. The experimental and field evaluation trials vividly indicated that the Integrated Pest Management approach against Uzi fly is highly effective in controlling the pest infestation by 75.31% in tropical tasar silkworm and 70.28% in temperate tasar silkworm. The cost benefit ratio was calculated as 1:5.7 which is more economical for adoption of the eco-friendly technology in farmers' field conditions of tropical and temperate tasar growing States of India.

Keywords: Integrated management, Uzi fly, *Blepharipa zebina*, *Nesolynx thymus*, Bleaching powder.

INTRODUCTION

Insect pests are known to interfere considerably with all the phases of tasar silk industry from soil to silk (Thangavelu and Singh, 1991). However, the crop loss due to various pests and predators has been estimated to the tune of 25-30% resulting in loss in production and productivity (Thangavelu and Singh, 1991). Tropical tasar silkworms, *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera: Saturniidae) and temperate tasar silkworm, *A. proylei* Jolly (Lepidoptera: Saturniidae) are attacked by large number of pests, parasites and predators. The most important endoparasitoid of silkworm, *A. mylitta* Drury and *A. proylei* Jolly during rearing is Uzi fly, *Blepharipa zebina* Walker (Diptera: Tachinidae) (Singh and Thangavelu, 1991; Kishore, et al 2001a). *Exorista* sps. is also reported to attack *A. proylei*. Besides these pests, other insect pests which also cause extensive damage to silkworms are *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris* and *Xanthopimpla pedator*.

* E. Mail: rkishor03@yahoo.co.in and ramkishore56@rediffmail.com

Keeping this huge loss in view, various control measures have been evolved to minimize loss in cocoon production (Kishore et al 2003; Thangavelu and Singh, 1991; Thangavelu and Singh, 1993). Various unilateral control measures have been adopted to control these pests. Although these measures help to reduce the pest infestation in tasar culture, the economic loss is not completely avoided (Kishore et al 2002 and 2003). Keeping the huge loss in view eco-friendly integrated pest management package has been developed at Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, India involving mechanical, chemical and biological measures to control Uzi fly.

MATERIALS AND METHODS

The eco-friendly and economic IPM package against Uzi fly, *Blepharipa zebina* was demonstrated in Research Extension Center, Hatgamhria, Basic Seed Multiplication & Training Center, Kharsawan (Jharkhand), REC, Bangariposi, Regional Tasar Research Station, Baripada, BSM & TC, Nabrangpur (Orissa), and field units of Regional Tasar Research Station, Imphal, Manipur State of India. Silkworm races like *Antheraea mylitta* and *A. proylei* were used as test animals reared on the bushes of tasar food plants following the improved method of rearing. In all 3000 disease free layings (in nine silkworm crops) were subjected to integrated management. Five replications were maintained for collection of data for each treatment.

Components of IPM package:

a. Mechanical:

Uzi fly infested / dead silkworm larvae were collected and destroyed during and after silkworm rearing.

Uzi fly maggots / Pupae were collected from rearing field / grainage house and destroyed.

Flimsy and Uzi fly infested cocoons were harvested early and stifled.

Sticky trap (Lassa- adhesive) was used for collecting and killing the adult Uzi flies.

b. Chemical:

Commercially available bleaching powder solution (2%) was prepared by adding 80 grams of bleaching powder in one liter of water and applied on silkworm body to kill Uzi fly eggs. This treatment was repeated four to five times.

Schedule of spray:

IV instar: 3rd day once;

V instar: 3rd, 5th and 7th day once each (when larval duration was prolonged, one additional spray was done on 9th day also).

c. Biological:

Nesolynx thymus (Girault), a bio-control agent of Uzi fly was mass multiplied in the insectary of CTR and TI, Ranchi (Kishore et al., 2001b) and parasitized puparia were supplied to Jharkhand, Orissa and Manipur for their release. Adults of *N. thymus* were fed with aqueous honey solution (50%) for two days before release (Kishore et al., 2003) in the field during late evening hours. They were released at the rate of 1, 00,000 adults for 100 dfls (disease free layings) of silkworm rearing.

Schedule of parasitoid release:

Once at the time of cocoon harvest: 30000 adults; once after seven days of cocoon harvest in rearing field: 40000 adults and once after seven days of cocoon harvest in grainage house: 30000 adults.

The experiment was carried out by maintaining the temperature of 27±2°C and relative humidity 65 ± 5%. Accrued data were subjected to statistical analysis to determine the level of significance on the variations recorded on the parameters.

RESULTS AND DISCUSSION

Integration of unilateral strategies was done for the purpose of attacking different stages of Uzi fly development. There was a significant ($P < 0.01$) decline in the percentage of Uzi infestation throughout the period of the study in the treatment area. Observations recorded in unilateral and IPM practices revealed that the percentage of infestation was found to be 4.88% by application of IPM package, whereas the same was 12.62%, 16.32% and 17.15% when mechanical, chemical and biological unilateral control strategies were adopted, while in control (untreated) the Uzi fly infestation was 20.94% (Table I). The data revealed that the Uzi fly infestation in control was significantly higher ($P < 0.01$). Hence, it is evident that when IPM practices were adopted, significant reduction in Uzi fly infestation was recorded against mechanical, chemical and biological control strategies (Table I). Field evaluation of IPM package in tropical areas such as Orissa and Jharkhand States was undertaken. Results revealed significant reduction of Uzi fly infestation in Orissa and Jharkhand by 73.15 and 77.46%, respectively over control. Significant increase ($P < 0.05$) in cocoon yield was also recorded in all the above localities (Table II). Similarly, evaluation of IPM package in temperate tasar at field units of Imphal, Manipur state was also undertaken and revealed a significant reduction of Uzi fly infestation by 70.28% over control and increase in cocoon yield (Table III).

The data revealed that the Uzi fly infestation in control was significantly higher ($P < 0.01$). Hence, it is evident that when IPM practices were adopted, significant reduction in Uzi fly infestation was recorded against untreated areas. The comparative efficiency of the integrated package of different localities in terms of pest control achieved and increase in cocoon production is presented in Table III. By adopting this package, the Uzi fly infestation level was reduced below economic injury level that cannot be achieved using unilateral control measures (Datta, 1992).

Table I. Unilateral and integrated control methods to control Uzi fly, *B. zebina*.

Tableau I. Méthodes de lutte unilatérales et intégrées contre la mouche uzi, *B. zebina*.

Control methods	Uzi fly infestation	Control achieved (%)	Gain in cocoon yield / 100 Dfls
<i>Méthodes de lutte</i>	<i>Infestation par la mouche uzi (%)</i>	<i>% de lutte atteint</i>	<i>Gain de rendement en cocons / 100 pontes saines</i>
Mechanical / Mécanique	12.62 (20.79)	39.73	897
Chemical / Chimique	16.32 (23.81)	22.06	459
Biological/ Biologique	17.15 (24.50)	18.11	391
I P M	4.88 (12.79)	76.69	1532
Control / Témoin	20.94 (27.21)		
C.D. at 5% / D. C. à 5 %	1.22	2.32	

Figures in parentheses are angular transformed values. / Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs angulaires transformées.

Table II. Effect of IPM package on Uzi fly, *B. zebina* in *Antheraea mylitta*.

 Tableau II. Effet de l'ensemble IPM sur la mouche uzi, *B. zebina* chez *Antheraea mylitta*.

Localities	Treatment	Uzifly infestation (%)	Cocoon Yield (No.) / 100 Dfl's	Yield gain over control / 100 Dfl's	Significance of t – value
Localités	Traitement	Infestation par la mouche uzi (%)	Rendement en cocons (en nbre) / 100 pontes saines	Gain de rendement par rapport au témoin / 100 pontes saines	Signification de la valeur t
Orissa	IPM	4.74 (12.52)	4247	1407	P < 0.05
	Control / Témoin	17.66 (24.85)	2840		
Jharkhand	IPM	5.63 (13.69)	4261	1544	P < 0.05
	Control / Témoin	24.98(29.95)	2717		

 Table III. Effect of IPM package on Uzi fly, *B. zebina* in *Antheraea proylei*.

 Tableau III. Effet de l'ensemble IPM sur la mouche uzi, *B. zebina* chez *Antheraea proylei*.

Treatment	No. of replication	No. of Worms	Uzi fly infestation (%)	Cocoon yield (No.)	Yield gain over control (No.)	Significance of t – value
Traitement	Nbre de répétitions	Nbre de vers	Infestation par la mouche uzi (%)	Rendement en cocons (en nbre)	Gain en rendement par rapport au témoin (Nbre)	Signification de la valeur "t"
IPM	500 × 6	3000	8.66 (17.13)	2298	557	P < 0.05
Control / Témoin	500 × 6	3000	29.14 (32.65)	1741		

Similarly integrated practices have been adopted in mulberry sericulture (Kumar *et al* 1993) to control *Exorista bombycis* and found almost same results. Use of pesticide in tasar eco-system has to be restricted as tasar silkworm does not tolerate even sub-lethal doses of toxic compounds (Kishore *et al.*, 2002). Burning of gum of *Shorea robusta* in the forest was found to be repellent and reduced tasar uzi population by 20% (Dutta *et al* 1993). Hence, IPM involving population suppression by natural enemies, mechanical control and spraying of disinfectant (bleaching powder 2.0%) has been adopted for minimizing pest population (Kishore *et al* 2004 & 2005).

Table IV. Economics of the IPM package developed for the control of Uzi fly, *B. zebina*.Tableau IV. Rentabilité de l'ensemble IPM mis au point dans la lutte contre la mouche uzi, *B. zebina*.

Expenditure for 100 Dfls of silkworm rearing.

Dépenses pour l'élevage de 100 pontes saines de ver à soie.

Sl.No.	Particulars	Expenditure (in Rs.)
No. de série	Caractéristiques	Dépenses (en Rs)
1	Mechanical method (two man days) <i>Méthode mécanique (deux jours de travail)</i>	Family labours <i>Main d'oeuvre familiale</i>
2	Chemical method (chemical & sprayer cost) <i>Méthode chimique (coût du produit chimique et de la vaporisation)</i>	70.00
3	Biological method (cost of 1,00,000 adults of <i>N. thymus</i>) <i>Méthode biologique (coût de 100 000 adultes de N. thymus)</i>	150.00
4	Total	220.00

Table V. Cost benefit ratio of the technology in the field.

Tableau V. Rapport coût bénéfice de la technologie sur le terrain.

Sl.No.	Item	Amount / No.
No. de Données série		Quantité / Nbre
1	Expenditure for IPM package to control uzifly, <i>B. zebina</i> <i>Dépenses pour l'ensemble IPM pour lutter contre la mouche uzi, B. zebina</i>	Rs. 220.00
2	Gain of cocoons with the adoption of the technology from 100 dfls <i>Gain de cocons à partir de 100 pontes saines en adoptant la technologie</i>	1474
3	Sale value of the cocoons @ Rs. 1.0 per cocoon (approximate cost) <i>Valeur commerciale des cocons à raison de 1 Rs par cocon (coût approximatif)</i>	Rs.1474.00
4	Profit from the sale of 1474 cocoons obtained from 100 dfls <i>Profits tirés de la vente de 1474 cocons provenant de 100 pontes saines</i>	1474 – 220= 1254
5	Net profit from 100 Dfls of silkworm rearing <i>Profit net à partir d'un élevage de 100 pontes saines</i>	Rs.1254.00
6	Cost benefit ratio / <i>Rapport coût bénéfice</i>	1:5.7

The above results clearly establish that the adoption of an IPM package against Uzi fly *B. zebina* could lead to optimization of cocoon yield significantly both in tropical and temperate tasar over control. It is, therefore, imperative that the IPM package against Uzi fly is the adequate approach in terms of eco-friendliness, higher level control of pest and optimization of cocoon production. By adoption of IPM package for the control of Uzi fly at farmers level an additional 1474 cocoons / 100 Dfls costing Rs. 1474.00 could be harvested (Table IV & V). The package is eco-friendly in nature which minimizes the insecticidal load in the forest ecosystem which has a direct bearing in natural control of various pest and predators.

Cost benefit ratio:

Gain of 14 - 15 cocoons per dfls was recorded which corresponds to net profit of Rs. 1254.00 from rearing of 100 disease free layings (Dfls).

C B ratio — 1: 5.7

REFERENCES

- DATTA, R K (1992) Integrated Pest Management (IPM) – an answer to Uzi menace. *Indian Silk*, 31(2): 36 – 40.
- DUTTA, R N, PATNAIK, S K, JOHRI, S C, RAMANJANEYULU & SANTHA, P C (1993) Role of vegetation on uzi fly control in tasar culture. *Recent Adv. Uzi fly Res.* 247 – 251.
- KISHORE, R, SHARMA, S P & THANGAVELU, K (2001a) Ovipositional behaviour of Uzi fly, *Blepharipa zebina* Walker, An endoparasitoid of silkworm *Antheraea mylitta* D. *Indian J. Seric.*; 40(1): 92-95
- KISHORE, R, SHARMA, S P, SHARAN, S K, SINHADEO, S N & THANGAVELU, K (2001b) Optimal conditions of host – parasitoid density, ratio and age for the multiplication of *Nesolynx thymus* (Girault), a parasitoid of the Uzi fly, *Blepharipa zebina* Walker. *Sericologia*. 41(3): 440 – 454.
- KISHORE, R, SHARMA, S P, SHARAN, S K, SINHA, B R R P & THANGAVELU, K (2002) IPM approach to optimize tasar silkworm cocoon production. *Advances in Indian Sericulture Research*, : 402 – 405
- KISHORE, R, SHARMA, S P, SINHADEO, S N & KULSHRESHTHA, V (2003) Parasitisation efficiency of *Nesolynx thymus* against uzi fly, *Blepharipa zebina* at field level. *Proceedings National Symposium on Frontier Areas of Entomological Research, Division of Entomology, IARI, New Delhi*.: 228-229.
- KISHORE, R, SHARMA, S P, SINHADEO, S N, RAI, S, ROY, G C & SINHA, B R R P (2004) *Annual report*, CTR and TI, Nagri, Ranchi, P. 68-70.
- KISHORE, R, SHARMA, S P, DEBNATH, A K, ROY, G C & SURYANARAYANA, N (2005) IPM approach to enhance tasar silkworm cocoon production. *Proceedings of Inter. Seri. Commission, Vol. II (Non mulberry Silkworm)*: 48 – 52.
- KUMAR, P, MANJUNATH, D, PRASAD, K S, KISHORE, R, KUMAR, V & DATTA, R K (1993) Integrated Management of the uzi fly, *Exorista bombycis* (Louis) (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of the silkworm, *Bombyx mori* L., *Inter. Jour. Pest Management*: 445 - 448.
- SINGH, R N & THANGAVELU, K (1991) Parasites and predators of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* and their control measures. *Indian Silk*, 29(12): 33-36.
- THANGAVELU, K & SINGH R N (1991) Integrated pest management in tasar culture. *Ann. Entomol.* 9(2): 59-65.
- THANGAVELU, K & SINGH R N (1993) Integrated management of Uzi fly, *Blepharipa zebina* in tasar ecosystem. *Recent Adv. Uzi fly Res.* 239-246.

GESTION INTEGREE POUR LUTTER CONTRE LA MOUCHE UZI, *BLEPHARIPA ZEBINA* WALKER, UN ENDOPARASITOÏDE DES VERS A SOIE TASAR TROPICAL ET TEMPERE

RAM KISHORE*, A. K. DEBNATH & N. SURYANARAYANA

Central Tassar Research and Training Institute, Ranchi – 835 303, India.

La soie tassar indienne, une soie sauvage que l'on trouve en forêt, est produite par le ver à soie, *Antheraea mylitta* Drury. Le ver à soie est exposé à l'attaque par des nuisibles, des parasites et des prédateurs variés puisque l'élevage a lieu à l'extérieur. On a estimé les pertes de récolte dues aux nuisibles et aux prédateurs à 25-30 %, ce qui entraîne une perte de production en cocons et en productivité. Les principaux nuisibles du ver à soie du tassar sont *Blepharipa zebina*, *Canthecona furcellata*, *Sycanus collaris* et *Xanthopimpla pedator*, dont le plus important est la mouche uzi, *Blepharipa zebina* Walker. La mouche uzi est une mouche tachinaire et sa femelle pond des œufs sur le corps du ver à soie et après l'éclosion, son asticot pénètre dans le corps du ver à soie et se nourrit de ses tissus internes. Au dernier stade, l'asticot sort en tuant le ver à soie ou la chrysalide, ce qui entraîne des pertes économiques considérables pour le ver à soie tassar tropical, *Antheraea mylitta* Drury et le ver à soie tassar tempéré, *A. proylei* Jolly. Le chlorure de chaux et *Nesolynx thymus*, un agent de lutte biologique jouent un rôle clé dans la lutte contre la mouche uzi du tassar. On a adopté différentes mesures de lutte unilatérales pour lutter contre la mouche uzi. L'Institut Central de Recherche et de Formation sur le Tassar à Ranchi, en Inde a mis au point un ensemble IPM économique et non nuisible à l'environnement impliquant des mesures mécaniques, chimiques (utilisation d'une solution à base de chlorure de chaux comme ovicide) et biologiques (libération de *Nesolynx thymus*, un agent de lutte biologique pour attaquer les stades immatures de la mouche uzi) pour lutter contre la mouche uzi. Les tests expérimentaux et d'évaluation sur le terrain indiquent clairement que l'approche de Gestion Intégrée des Parasites (I. P. M.) contre la mouche uzi est très efficace pour lutter contre l'infestation par les parasites à 75,31 % chez le ver à soie tassar tropical et à 70,28 % chez le ver à soie tassar tempéré. On a calculé que le ratio coût bénéfice est de 1 : 5,7, ce qui rend économique l'adoption de la technologie écologique par les fermiers dans les conditions de terrain, dans les états où l'on élève le tassar tropical et tempéré en Inde.

INTRODUCTION

On sait que les insectes nuisibles interfèrent considérablement avec toutes les phases de l'industrie de la soie tassar allant du sol à la soie (Thangavelu et Singh, 1991). On estime les pertes de récoltes dues aux nuisibles et aux prédateurs variés de l'ordre de 25-30 %, ce qui entraîne des pertes de production et de productivité (Thangavelu et Singh, 1991). Un grand nombre de nuisibles, de parasites et de prédateurs attaquent les vers à soie tassar tropicaux *Antheraea mylitta* Drury (Lépidoptères : Saturnidés) et tempérés, *A. proylei* Jolly (Lépidoptères : Saturnidés). L'endoparasitoïde le plus important des vers à soie, *A. mylitta* Drury et *A. proylei* Jolly pendant l'élevage est la mouche uzi, *Blepharipa zebina* Walker (Diptères : Tachinides) (Singh et Thangavelu, 1991 ; Kishore et coll., 2001a). On a aussi rapporté qu'*Exorista* sp. attaque *A. proylei*. En plus de ces

* Email : rkishor003@yahoo.co.in et ramkishore56@rediffmail.com

nuisibles, les autres insectes nuisibles qui provoquent des dégâts considérables pour les vers à soie sont *Canthecona furcellata*, *Syncanus collaris* et *Xanthopimpla pedator*.

Compte tenu de ces énormes pertes, plusieurs mesures de lutte ont été mises au point pour minimiser les pertes de production en cocons (Kishore et coll., 2003 ; Thangavelu et Singh, 1991 ; Thangavelu et Singh, 1993). Plusieurs mesures de lutte unilatérales ont été adoptées pour lutter contre ces parasites. Bien que ces mesures contribuent à diminuer l'infestation par les nuisibles dans l'élevage du tasar, cela n'évite pas complètement les pertes économiques (Kishore et coll., 2002 et 2003). Compte tenu de ces pertes énormes, on a mis au point un ensemble écologique de gestion intégrée des nuisibles à l'Institut Central de Recherche et de Formation sur le Tasar à Ranchi, en Inde, qui comprend des mesures mécaniques, chimiques et biologiques pour lutter contre la mouche uzi.

MATERIELS ET METHODES

L'ensemble IPM écologique et économique contre la mouche uzi, *Blepharipa zebina* a été testé dans le Centre de Vulgarisation de la Recherche d'Hatgamhria, dans le Centre de Base de Formation et de Multiplication des Graines de Kharsawan (Jharkhand), au REC, de Bangariposi, à la Station de Recherche Régionale sur le Tasar de Baripada, au BSM& TC de Nabrangpur (Orissa) et dans les unités de terrain de la Station de Recherche Régionale sur le Tasar, d'Imphal, dans l'Etat du Manipur, en Inde. On utilise les races de ver à soie *Antheraea mylitta* et *A. proylei* comme animaux test, élevés sur les buissons des plantes hôtes du tasar en suivant la méthode améliorée d'élevage. En tout, on soumet 3000 pontes saines (de neuf récoltes de vers à soie) à une gestion intégrée. On maintient cinq répétitions pour le recueil des données pour chaque traitement.

Composantes de l'ensemble IPM :

a. Mécaniques :

On recueille des larves de ver à soie mortes / infestées par la mouche uzi et on les détruit au cours et après l'élevage des vers à soie.

On recueille les vers / les chrysalides de la mouche uzi dans le champ d'élevage / la magnanerie et on les détruit.

On recueille précocement les cocons mous et infestés par la mouche uzi et on les étouffe.

On utilise des pièges adhésifs (adhésif Lassa) pour recueillir et tuer les mouches uzi adultes.

b. Chimiques :

On prépare de la solution de chlorure de chaux disponible commercialement (2 %) en ajoutant 80 grammes de poudre de chaux à un litre d'eau et on l'applique sur le corps du ver à soie pour tuer les œufs de la mouche uzi. On répète ce traitement quatre à cinq fois.

Calendrier de vaporisation :

4^{ème} âge : une fois le 3^{ème} jour.

5^{ème} âge : 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} jour une fois (quand il y a un prolongement de la durée larvaire, on procède à une vaporisation supplémentaire également le 9^{ème} jour).

c. Biologiques :

On multiplie *Nesolynx thymus* (Girault) un agent de lutte biologique contre la mouche uzi en masse dans l'insectarium du CTR & TI, de Ranchi (Kishore et coll., 2001b) et on fournit les pupariums parasités à Jharkhand, Orissa et Manipur, pour qu'ils soient libérés. On nourrit les adultes de *N. thymus* avec une solution aqueuse à base de miel (50 %) pendant deux jours, avant la libération (Kishore et coll., 2003) dans le champ en fin de soirée. On les libère au taux de 100 000 adultes pour 100 pontes saines de vers à soie.

Calendrier de libération des parasitoïdes :

Une fois au moment de la récolte de cocons : 30 000 adultes ; une fois sept jours après la récolte de cocons dans le champ d'élevage : 40 000 adultes et une fois sept jours après la récolte de cocons dans la magnanerie : 30 000 adultes.

On procède à l'expérience en maintenant une température de $27 \pm 2^\circ \text{C}$ et une humidité relative de $65 \pm 5\%$. On soumet les données accumulées à une analyse statistique pour déterminer le niveau de signification des variations enregistrées pour les paramètres.

RESULTATS ET DISCUSSION

On a intégré différentes stratégies unilatérales dans le but d'attaquer différentes étapes du développement de la mouche uzi. Il y a une baisse significative ($P < 0,01$) du pourcentage d'infestation uzi pendant toute la période de l'étude dans la zone traitée. Les observations enregistrées avec les pratiques unilatérales et avec l'IPM révèlent que le pourcentage d'infestation est de 4,88 % avec l'application de l'ensemble IPM, tandis qu'il est de 12,62 %, 16,32 % et 17,15 % quand on adopte des stratégies de lutte unilatérale mécaniques, chimiques et biologiques, tandis que chez le témoin (non traité) l'infestation par la mouche uzi est de 20,94 % (Tableau I). Les données révèlent que l'infestation par la mouche uzi est significativement plus élevée chez le témoin ($P < 0,01$). Il est donc évident que quand on adopte les pratiques IPM, on enregistre une diminution significative de l'infestation par la mouche uzi par rapport aux stratégies de lutte mécaniques, chimiques et biologiques (Tableau I). On a entrepris une évaluation sur le terrain de l'ensemble IPM dans les zones tropicales, telles que les états de l'Orissa et du Jharkhand. Les résultats révèlent une diminution significative de l'infestation par la mouche uzi dans l'Orissa et le Jharkhand de respectivement 73,15 et 77,46 % par rapport au témoin. On enregistre aussi une augmentation significative ($P < 0,05$) du rendement en cocons dans toutes les localités ci-dessus (Tableau II). De même, on a aussi réalisé l'évaluation de l'ensemble IPM chez le tasar tempéré sur le terrain à Imphal dans l'état du Manipur et elle révèle une diminution significative de l'infestation par la mouche uzi de 70,28 %, par rapport au témoin et une augmentation du rendement en cocons (Tableau III).

Les données révèlent que l'infestation par la mouche uzi chez le témoin est significativement plus élevée ($P < 0,01$). Il est donc évident que quand on adopte les pratiques IPM, on enregistre une diminution significative de l'infestation par la mouche uzi par rapport aux zones non traitées. L'efficacité comparative de l'ensemble intégré dans les différentes localités, en termes de lutte réussie et d'augmentation de la production de cocons, est présentée dans le Tableau III. En adoptant cet ensemble, cela diminue le niveau d'infestation par la mouche uzi en dessous du seuil de préjudice économique, que l'on n'arrive pas à atteindre en utilisant des méthodes de lutte unilatérales (Datta, 1992).

Des pratiques intégrées similaires ont été adoptées dans la sériciculture sur mûrier (Kumar et coll., 1993) pour lutter contre *Exorista bombycis* et elles ont rencontré presque les mêmes résultats. L'utilisation de pesticides dans l'écosystème tasar doit être restreinte car le ver à soie tasar ne tolère pas les doses de composés toxiques même semi-létales (Kishore et coll., 2002). Faire brûler de la gomme de *Shorea robusta* dans la forêt s'avère être répulsif et diminue la population uzi sur le tasar de 20 % (Dutta et coll., 1993). On a donc adopté l'IPM qui comprend la suppression de la population par les ennemis naturels, par la lutte mécanique et par la vaporisation de désinfectants (chlorure de chaux à 2 %) pour minimiser la population de nuisibles (Kishore et coll., 2004 et 2005).

Les résultats ci-dessus montrent clairement que l'adoption d'un ensemble IPM contre la mouche uzi *B. zebina* pourrait déboucher sur l'optimisation significative du rendement en cocons, à la fois chez le tasar tropical et tempéré. Il est donc certain que l'ensemble IPM contre la mouche uzi est l'approche appropriée en termes d'écologie, de niveau de lutte plus élevé contre les nuisibles et d'optimisation de la production de cocons. En adoptant l'ensemble IPM de lutte contre la mouche uzi au niveau des fermiers, on peut récolter 1474 cocons supplémentaires pour 100 pontes saines, rapportant 1474 Rs (Tableaux IV et V). Ce système est écologique, ce qui minimise la quantité

d'insecticides dans l'écosystème forestier et cela a des répercussions directes dans la lutte naturelle contre des nuisibles et des prédateurs variés.

Rapport coût bénéfice :

On enregistre un gain de 14 à 15 cocons / ponte saine, qui correspond à un profit net de 1254 Rs. pour l'élevage de 100 pontes saines.

Ratio CB - 1 : 5,7.

EFFECT OF DIFFERENT COMBINATIONS OF MICRONUTRIENTS ON THE YIELD AND NUTRITIVE VALUE OF *TERMINALIA ARJUNA*

U.S.P.SINHA*, S.K. CHAUDHARY, A. K. SINHA, J. PRASAD, S. DAS & N. SURYANARAYANA

Central Tasar Research & Training Institute, P.O. Piska Nagri, Ranchi (Jharkhand), India.

Studies on the effect of different combinations of micronutrients mixture on the quality and leaf yield of Terminalia arjuna with 1.2 m × 1.2 m spacing revealed that the combination of micronutrients [Mn (1.50)+Cu(0.05)+B(0.05)+Mo(0.002)+Zn(0.25)+ Fe(0.05)] kg/ha/ crop is the best combination. Under this combination, increase in leaf yield ranges from 31.84 -50.40 % over control. Further, chemoassay and bioassay results also confirmed a significant improvement in the quality of leaf by the application of this combination.

Keywords: *Terminalia arjuna*, *Antheraea mylitta*, micronutrient, leaf yield, chemoassay, bioassay.

INTRODUCTION

The profitability of Sericulturist depends on quality and yield of leaves of the food plants for the silkworm. Maximization of leaf yield per unit area will lead to increased cocoon production per hectare at reduced cost (Sinha *et al.*, 2002). Further, Sinha *et al.* (1992) reported that soils of all states of India have become deficient in micronutrients. Bose *et al.* (1994) and Singhvi *et al.* (1996) have found that foliar spray of micronutrients increases significantly the quality and yield of mulberry leaf. Results of the experiments of Loknath and Shivshankar (1986) revealed that deficiencies of micronutrients limit the maximum potential yield of mulberry. Sinha *et al.* (2006) studied the effect of individual micronutrient on the growth and leaf yield of *Terminalia arjuna*. Based on the encouraging results of individual micronutrient, an attempt has been made to prepare a combination of micronutrients. The present paper describes the effect of different combinations of micronutrients on the yield and nutritive value of *T. arjuna*.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in the experimental field of Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi. Six micronutrients (Manganese, Zinc, Copper, Boron, Molybdenum and Iron) in six different combinations were foliarly applied to *Terminalia arjuna* with 1.2 × 1.2 m spacing three to four weeks before the commencement of rearing. Besides, a control with water spray and without micronutrients was also maintained under identical conditions. The usual package of practices of major nutrients i.e., N (150 kg/ha/year) in three split doses, P (50 kg/ha/year), K (50 kg/ha/year) and FYM (1 kg/plant/year) in one dose were followed for every treatment. The soil was sandy loamy laterite having pH 5.3, organic carbon 0.23%, available phosphorus 6.11 kg/ha, available potash 300 kg/ha. Micronutrients status of the soil is given below:

* Authors to whom correspondence may be addressed

Name of Micronutrient	Status in soil (ppm)
Available Manganese	135.7
Available Copper	39.9
Available Boron	0.37
Available Zinc	39.6
Available Molybdenum	252.7
Available Iron	37.8

Randomized Block Design with three replications was followed for each treatment. A sample size of 30 plants per replication was considered suitable for the experiment. Seven treatments including control are as follows:

- M₁:** Mn (0.50) + Cu (0.20) + B (0.20) + Mo (0.006) + Zn (1.00) + Fe (0.20) kg/ha/crop.
M₂: Mn (1.50) + Cu (0.05) + B (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/crop.
M₃: B (0.30) + Mn (0.25) + Cu (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/crop.
M₄: Mo (0.01) + Mn (0.25) + Cu (0.05) + B (0.05) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/crop.
M₅: Mn (0.50) + Cu (0.10) + B (0.30) kg/ha/crop.
M₆: Mn (0.25) + Cu (0.05) + B (0.20) + Mo (0.006) kg/ha/crop.
M₇: Control (water spray without micronutrient mixture).

Leaf samples were collected after 45 days of micronutrients application in the field excluding too tender and over matured leaves from each treated plot in three replications. All the biochemical constituents of leaves except moisture were determined on oven dry basis. Moisture, total minerals, total carbohydrate and crude fiber were estimated by the method of A.O.A.C. (1955). Kjeldahl's method as described by Vogel (1978) was followed for the determination of total nitrogen. Crude protein was calculated by multiplying the estimated value of the nitrogen content by 6.25. Bioassay was done by the method of Jolly *et al.* (1974). Method as suggested by Arunachalam and Bandyopadhyay (1984) was followed to decide the ranking of different combinations of micronutrients under study for different parameters.

RESULTS AND DISCUSSION

The influence of different combinations of micronutrients mixture on the yield and nutritive values of *Terminalia arjuna* has been shown in Table I. There has been significant increase in leaf yield in all micronutrient mixtures, the highest being 50.40 % for M₂ followed by M₅ (42.09%) and M₃ (40.21%). This might be due to the role of micronutrients in various physiological processes and favorable effects on nutrient interaction. Similar trend of increased leaf yield by the application of micronutrients has been reported by Day and Gupta (1974) and Bose *et al.* (1994). Significant increase in chemical constituent's viz., moisture, crude protein, total carbohydrate and total minerals were also recorded due to application of micronutrients mixture which may be due to the ready absorption of these nutrients by the foliage and its translocation to different parts where they may take part in metabolism. However, the increase was non-significant in case of crude fibre content. Findings of the present study corroborate the results of Horie *et al.* (1967), Vishwanath & Krishnamurthy (1983) and Loknath & Shivshankar (1986).

The effect of micronutrient mixtures on the economic characters of *A. mylitta* are presented in Table II. It is evident that feeding silkworm with micronutrients mixtures treated leaves has a favourable effect on the effective rate of rearing (E.R.R. %), cocoon weight, shell weight, silk ratio (S.R.%) and absolute silk. Increase in economic characters may be due to the improvement in the quality of leaves (Table I) which has a direct influence on the health, growth and survival of silkworms (Sinha *et al.*, 1986).

Table I. Leaf yield and foliar constituents of *T. arjuna* as influenced by different micronutrient mixtures.**Tableau I. Rendement foliaire et constituants foliaires de *T. arjuna* sous l'influence de différents mélanges de micronutriments.**

Micronutrient mixtures	Leaf yield (kg/plant)	Gain over control (%)	Moisture (%)	Crude protein (%)	Total carbohydrate (%)	Crude fibre (%)	Total minerals (%)
Mélanges de micronutriments	Rendement foliaire (kg / plant)	Gain par rapport au témoin (%)	Humidité (%)	Protéines brutes (%)	Hydrates de carbone (%)	Fibres brutes (%)	Ensemble des minéraux (%)
M1	4.63bc	24.13	71.00d	14.00d	15.50cd	8.65a	7.40d
M2	5.61a	50.40	73.50a	16.00ab	16.10abc	8.80a	8.35a
M3	5.23ab	40.21	72.00bc	15.50b	16.50a	8.72a	8.00b
M4	5.12ab	37.27	71.83c	14.80c	16.30ab	8.70a	7.90bc
M5	5.30ab	42.09	72.50b	16.50a	15.80bc	8.73a	8.18ab
M6	4.74ab	27.08	71.20d	15.83ab	15.10d	8.68a	7.60cd
M7 (control / témoin)	3.73c	-	70.08e	11.80e	14.60e	8.60a	7.00e
LSD at 5%	0.95	-	0.62	0.68	0.40	NS	0.30

Figures with different alphabets differ significantly. / Les chiffres avec des lettres différentes diffèrent de manière significative.

NS denotes not significant. / Non significatif

Average values are based on two years data. / Les données moyennes sont basées sur les données de deux années.

Data in Table III indicates the scores allotted to seven different combinations of micronutrients mixture under study for leaf yield, chemical constituents and economic characters by the method of Arunachalam and Bandyopadhyay (1984) where lower values signify higher ranking. It is evident from this Table that among different combinations of micronutrients mixtures, treatment M2 i.e., foliar application of [Mn (1.50) + Cu (0.05) + B (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05)] kg/ha/crop is the best combination.

Micronutrient mixture M2 was tested in three states of India i.e., Jharkhand, Andhra Pradesh and Orissa under multilocal trial and finally the technology was extended to farmers in the above three states through Research Extension Centres. The statistically analyzed data revealed that micronutrients mixture M2 has significantly improved both the leaf yield and cocoon characters (Table IV). Leaf yield increased by 36.27 % at Centre level and 31.84 % at farmer's level.

Table II. Influence of micronutrient mixtures on the economic characters of *A. mylitta*.**Tableau II. Influence des mélanges de micronutriments sur les caractères économiques d'*A. mylitta*.**

Micronutrient mixtures	E.R.R. (%)	Cocoon Weight (g)	Shell Weight (g)	S.R. (%)	Absolute silk (g)
<i>Mélanges de micronutriments</i>		<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Poids de la coque (g)</i>		<i>Soie absolue (g)</i>
M1	28.83a	12.55d	2.08ab	16.57a	89.95a
M2	29.67a	12.80c	2.12a	16.56a	94.35a
M3	27.17a	13.19a	2.11a	16.00bc	85.99a
M4	26.33a	12.81c	2.09ab	16.32abc	82.54a
M5	28.33a	13.00b	2.13a	16.38abc	90.51a
M6	26.50a	12.47de	2.05ab	16.44ab	81.49a
M7 (control / témoin)	18.50b	12.37e	1.96b	15.84c	54.39b
LSD at 5%	5.29	0.14	0.14	0.55	19.84

Figures with different alphabets differ significantly.

*Les chiffres avec des lettres différentes diffèrent de manière significative.*Average values are based on two years data. / *Les données moyennes sont basées sur les données de deux ans.*E.R.R.: Effective rate of rearing / *Taux effectif d'élevage.*

$$\text{S.R. \%} = \frac{\text{Shell weight} \times 100}{\text{Cocoon weight}}$$

$$\% \text{ R. S.} = \frac{\text{Poids de la coque} \times 100}{\text{Poids du cocon}}$$

Absolute silk (g): Shell weight (g) × Cocoons/df.

Soie absolue (g) : Poids de la coque (g) × Cocons / ponte saine.

Table III. Scoring of different micronutrient mixtures for leaf yield, chemical constituents and economic characters.

Tableau III. Résultats de différents mélanges de micronutriments pour le rendement foliaire, les constituants chimiques et les caractères économiques.

Micronutrient mixtures	Leaf yield	Chemical constituents					Economic characters						Rank
		Moisture	Crude protein	Total carbo hydrate	Crude fibre	Total mineral	ERR	Cocoon wt.	Shell wt.	Silk ratio	Absolute silk	Total score	
		Constituants chimiques					Caractères économiques						
Mélanges de micronutriments	Rendement foliaire	Humidité	Protéines brutes	Ensemble des hydrates de carbone	Fibres brutes	Ensemble des minéraux	Pds. du cocon	Poids de la coque	Richesse soyeuse	Soie absolue	Résultat total	Classement	
M ₂	0.33	0.20	0.30	0.40	1.00	0.20	0.50	0.60	0.50	0.33	0.50	4.86	I
M ₅	0.50	0.40	0.20	0.50	1.00	0.30	0.50	0.40	0.50	0.67	0.50	5.47	II
M ₃	0.50	0.50	0.40	0.20	1.00	0.40	0.50	0.20	0.50	0.83	0.50	5.53	III
M ₄	0.50	0.60	0.60	0.30	1.00	0.50	0.50	0.60	0.75	0.67	0.50	6.52	IV
M ₁	0.83	0.80	0.80	0.70	1.00	0.80	0.50	0.80	0.75	0.33	0.50	7.81	V
M ₆	0.50	0.80	0.30	0.80	1.00	0.70	0.50	0.90	0.75	0.50	0.50	7.25	VI
M ₇ (Cont. / Témoin)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	11.00	VII

Table IV. Performance of micronutrients mixture (M2) in different states at Research Extension Centers (REC) and Farmer's level

Tableau IV. Performance du mélange de micronutriments (M2) dans les Centres de Vulgarisation de la Recherche (REC) et au niveau des Fermiers dans différents états.

Parameter <i>Paramètre</i>	REC, Hatgamaria (Jharkhand)			REC, Mulug, (Andhra Pradesh)			REC, Bangriposi (Orissa)			Average <i>Moyenne</i>		
	M ₂	Control <i>Témoin</i>	't' value <i>Valeur "t"</i>	M ₂	Control <i>Témoin</i>	't' value <i>valeur "t"</i>	M ₂	Control <i>Témoin</i>	't' value <i>Valeur "t"</i>	M ₂	Control <i>Témoin</i>	Gain (%)
(A) AT CENTER LEVEL / (A) AU NIVEAU DES CENTRES												
Leaf yield (kg/plant)	2.52	1.64	12.45**	1.54	1.20	11.07**	3.84	2.96	3.91**	2.63	1.93	36.27
E.R.R. (%)	46.90	38.30	5.26**	44.10	28.90	17.26**	38.80	32.90	2.45*	43.26	33.36	30.07
Cocoon weight (g)	13.10	12.04	9.87**	10.88	9.46	6.86**	10.27	9.80	3.57**	11.42	10.43	9.49
Shell weight (g)	2.04	1.75	13.98**	1.28	0.96	4.67**	1.09	0.92	7.20**	1.47	1.21	21.49
S.R. (%)	15.61	14.56	6.01**	11.80	10.17	2.75**	10.63	9.39	5.43**	12.68	11.37	11.52
(B) AT FARMER LEVEL / (B) AU NIVEAU DES FERMIERS												
Leaf yield (kg/plant)	1.39	0.91	20.33**	1.60	1.21	42.87**	4.09	3.26	8.08**	2.36	1.79	31.84
E.R.R. (%)	34.20	28.60	4.46**	28.50	20.90	6.06**	29.20	19.00	15.78**	30.63	22.83	34.16
Cocoon weight (g)	12.38	11.03	11.65**	10.51	9.92	4.42**	8.83	7.84	4.27**	10.57	9.60	10.10
Shell weight (g)	1.93	1.64	12.37**	1.16	0.98	4.32**	0.85	0.65	6.86**	1.31	1.09	20.18
S.R.(%)	15.61	14.93	3.82**	11.05	9.83	3.92**	9.60	8.33	5.24**	12.09	11.03	9.61

*Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*. ** Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %*. E.R.R. : Effective rate of rearing / *Taux effectif d'Élevage*. M₂ : Micronutrients mixture / *Mélange de micronutriments* [Mn (1.50) + Cu (0.05) + B (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05)] kg/ha/crop. Leaf yield (kg / plant) / *Rendement foliaire (kg / plant)*. Cocoon weight / *Poids du cocon*. Shell weight / *Poids de la coque*.

$$SR\% = \frac{\text{Shell weight} \times 100}{\text{Cocoon weight}} \quad \%RS = \frac{\text{Poids de la coque} \times 100}{\text{Poids du cocon}}$$

From the present study it is, therefore, concluded that among all the combinations of micronutrients under study, the combination M₂ i.e., foliar application of [Mn (1.50) +Cu (0.05) +B (0.05) +Mo (0.002) +Zn (0.25) +Fe (0.05)] kg/ha/crop is the best combination for improvement in leaf yield and quality of *T. arjuna*.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors are grateful to the incharges & staff of extension centres of Hatgamaria, Mulug & Bangariposi for their assistance in multilocal trials at Jharkhand, Andhra Pradesh and Orissa.

REFERENCES

- ARUNACHALAM V. & BANDYOPADHYAY A. (1984) A method to make decisions jointly on a number of dependent characters. *Indian J.Genet.* 44(3):413-424
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC) (1955). Official method of analysis, 8th edition, Washington, 99, 118-119,368,373.
- BOSE P. C., SINGHVI, N. R. and DUTTA, R. K. (1994) Effect of micronutrients on above- ground biomass and economics of mulberry leaf production. *J. Seric.* 2 (1 &2): 23-26.
- DAY D. and GUPTA B. K. (1974) Effect of micronutrients on the yield and chemical composition of mulberry leaf. *Ann. Rep. Central Sericultural Research Station, Berhampore.* pp. 81-82.
- HORIE Y., WATANABE K. & ITO T. (1967) Nutrition of the silkworm *B. mori* L. Quantitative requirement for potassium, phosphorus, magnesium and zinc. *Bull.Seric.Expt. Sta.*, 33(20):181-193.
- JOLLY M.S.; SEN, S.K AND AHSAN, M.M (1974) *Tasar culture*, Ambika Publishers, Bombay.
- LOKNATH R. and SHIVASHANKAR K. (1986) Effect of foliar application of micronutrients and Magnesium on the growth, yield and quality of mulberry *Morus alba*. *Indian.J. Seric.* 25 (1): 1-5.
- SINGHVI N. R., BOSE P. C., REDDY M. MUNIRATHNAM, SINHA A. K., SUBBASWAMY M. R., HIMANTHARAJ M. T. and DUTTA R. K. (1996) Effect of micronutrients on growth and quality of mulberry leaf. *Bull. Sericult. Res.*, 7: 11-14.
- SINHA A.K., CHAUDHARY S.K., BRAHMACHARI B.N. AND SENGUPTA K. (1986) Foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm *Antheraea proylei*. *Indian J.Seric.* 25(1):42-43.
- SINHA A. K., REDDY M. M., SUBBASWAMY M. R. and DUTTA R. K. (1992) Micronutrients and their role in mulberry nutrition. *Indian Silk*, 31(7): 43-45.
- SINHA, U. S. P., ISA MD., SINHA A. K. and BRAHMACHARI, B. N. (2002) Effect of different combinations of NPK fertilizers on the yield and nutritive value of *Terminalia tomentosa*. *Sericologia*, 42(2) : 241-247.
- SINHA U.S.P., SINHA A.K., BANERJEE N.D., PRASAD J., CHAUDHARY S.K. & SURYANARAYANA N. (2006) Effect of micronutrients on the growth and leaf yield of *Terminalia arjuna*. *Sericologia*, 46(1), 127-132.
- VISWANATH A. P, AND KRISHNAMURTHY K.(1983) Effect of foliar spray of micronutrients on the larval development and cocoon characters of silkworm *Bombyx mori* L .*Indian J.Seric.*, 21 : 1-6.
- VOGEL A. I. (1978) A text book of quantitative inorganic analysis including elementary instrumental analysis 4th edition, Longman Group Ltd., London: 926p.

EFFET DE DIFFERENTES COMBINAISONS DE MICRONUTRIMENTS SUR LE RENDEMENT ET LA VALEUR NUTRITIVE DE *TERMINALIA ARJUNA*

U. S. P. SINHA*, S. K. CHAUDHARY, A. K. SINHA, J. PRASAD, S. DAS & N. SURYANARAYANA

Central Tasar Research & Training Institute, P. O. Piska Nagri, Ranchi (Jharkhand), Inde.

Les études sur l'effet de différentes combinaisons de micronutriments sur la qualité et le rendement foliaire de Terminalia arjuna avec un espacement de 1,2 m × 1,2 m révèlent que la combinaison de micronutriments [Mn (1,50) + Cu (0,05) + B (0,05) + Mo (0,002) + Zn (0,25) + Fe (0,05)] kg / ha / récolte est la meilleure combinaison. Avec cette combinaison, l'augmentation du rendement foliaire est de 31,84 à 50,40 % par rapport au témoin. De plus, les résultats de l'évaluation chimique et biologique confirment aussi une amélioration significative de la qualité de la feuille avec l'application de cette combinaison.

INTRODUCTION

La rentabilité pour les sériciculteurs dépend de la qualité et du rendement en feuilles des plantes hôtes du ver à soie. La maximisation du rendement foliaire par unité de surface augmente la production de cocons par hectare à un moindre coût (Sinha et coll., 2002). Par ailleurs, Sinha et coll., (1992) ont rapporté que les sols dans tous les Etats indiens sont devenus carencés en micronutriments. Bose et coll., (1994) et Singhvi et coll., (1996) ont constaté que la vaporisation foliaire de micronutriments augmente significativement la qualité et le rendement en feuilles de mûrier. Les résultats des expériences de Loknath et Shivashankar (1986) ont révélé que les carences en micronutriments limitent le potentiel de rendement maximum du mûrier. Sinha et coll., (2006) ont étudié l'effet de chaque micronutriment individuel sur la croissance et le rendement foliaire de *Terminalia arjuna*. D'après les résultats encourageants pour chaque micronutriment individuel, nous avons essayé de préparer une combinaison de micronutriments. Cet article décrit l'effet de différentes combinaisons de micronutriments sur le rendement et la valeur nutritive de *T. arjuna*.

MATERIELS ET METHODES

On a réalisé l'expérience dans le terrain expérimental du *Central Tasar Research & Training Institute* de Ranchi. On applique six micronutriments (manganèse, zinc, cuivre, bore, molybdène et fer) en six combinaisons différentes sur la feuille de *Terminalia arjuna*, avec un espacement de 1,2 m × 1,2 m, trois ou quatre semaines avant le commencement de l'élevage. Par ailleurs, on maintient aussi un témoin avec une vaporisation d'eau et sans micronutriment dans des conditions identiques. On suit l'ensemble habituel de pratiques pour les nutriments principaux, c'est-à-dire N (150 kg / ha / an) en trois doses séparées, P (50 kg / ha / an), K (50 kg / ha / an) et du fumier (1 kg / plant / an) en une dose pour chaque traitement. Le sol est du terreau de latérite sablonneux au pH de 5,3, avec 0,23 % de carbone organique, 6,11 kg / ha de phosphore disponible, 300 kg / ha de potasse disponible. La quantité de micronutriments dans le sol est présentée ci-dessous.

* Auteur auquel adresser la correspondance

Micronutriment	Quantité dans le sol (ppm)
Manganèse disponible	135,7
Cuivre disponible	39,9
Bore disponible	0,37
Zinc disponible	39,6
Molybdène disponible	252,7
Fer disponible	37,8

On suit la conception aléatoire en blocs, avec trois répétitions pour chaque traitement. On considère qu'un échantillon contenant 30 plants par répétition convient à l'expérience. Les sept traitements y compris le témoin sont les suivants :

M₁: Mn (0.50) + Cu (0.20) + B (0.20) + Mo (0.006) + Zn (1.00) + Fe (0.20) kg/ha/récolte.

M₂: Mn (1.50) + Cu (0.05) + B (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/récolte.

M₃: B (0.30) + Mn (0.25) + Cu (0.05) + Mo (0.002) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/récolte.

M₄: Mo (0.01) + Mn (0.25) + Cu (0.05) + B (0.05) + Zn (0.25) + Fe (0.05) kg/ha/récolte.

M₅: Mn (0.50) + Cu (0.10) + B (0.30) kg/ha/récolte.

M₆: Mn (0.25) + Cu (0.05) + B (0.20) + Mo (0.006) kg/ha/récolte.

M₇ : Témoin (vaporisation d'eau sans mélange de micronutriments)

On recueille les échantillons de feuilles 45 jours après l'application des micronutriments sur le terrain, à l'exception des feuilles trop tendres et trop mûres, dans chaque parcelle traitée présentée en trois répétitions. On détermine tous les constituants biochimiques des feuilles, à l'exception de l'humidité, sur la base d'un séchage au four. On estime l'humidité, l'ensemble des minéraux, des hydrates de carbone et des fibres brutes par la méthode d'A.O.A.C. (1955). On suit la méthode de Kjeldahl selon la description de Vogel (1978) pour la détermination de l'azote total. On calcule les protéines brutes en multipliant la valeur estimée de la teneur en azote par 6,25. On procède à l'évaluation biologique d'après la méthode de Jolly et coll., (1974). On suit la méthode proposée par Arunachalam et Bandyopadhyay (1984) pour classer les différentes combinaisons de micronutriments étudiés par rapport à différents paramètres.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'influence des différentes combinaisons de micronutriments sur le rendement et la valeur nutritive de *Terminalia arjuna* est présentée dans le Tableau I. Il y a une augmentation significative du rendement foliaire avec tous les mélanges de micronutriments, la plus élevée étant de 50,40 % avec M₂, suivi par M₅ (42,09 %) et par M₃ (40,21 %). Cela pourrait être dû au rôle des micronutriments dans divers processus physiologiques et aux effets favorables de l'interaction entre les nutriments. Day et Gupta (1974) et Bose et coll., (1994) ont rapporté une tendance similaire d'augmentation du rendement foliaire grâce à l'application de micronutriments. On a aussi enregistré une augmentation significative des constituants chimiques, c'est-à-dire de l'humidité, des protéines brutes, de l'ensemble des hydrates de carbone et des minéraux grâce à l'application d'un mélange de micronutriments, qui pourrait être due à l'absorption rapide de ces nutriments par le feuillage et à leur translocation vers différentes parties, où ils pourraient prendre part au métabolisme. Cependant, l'augmentation est non significative dans le cas de la teneur en fibres brutes. Les observations de cette étude corroborent les résultats d'Horie et coll., (1967), de Vishwanath et Krishnamurthy (1983) et de Loknath et Shivshankar (1986).

L'effet des mélanges de micronutriments sur les caractères économiques d'*A. mylitta* est présenté dans le Tableau II. Il est évident que l'alimentation du ver à soie avec des feuilles traitées avec des mélanges de micronutriments a un effet favorable sur le taux effectif d'élevage (% E. R.R), sur le

poids du cocon, sur le poids de la coque, sur la richesse soyeuse (% R. S.) et sur la soie absolue. L'augmentation des caractères économiques pourrait être due à l'amélioration de la qualité des feuilles (Tableau I), ce qui a une influence directe sur la santé, la croissance et la survie des vers à soie (Sinha et coll., 1986).

Les données du Tableau III montrent les résultats attribués aux sept différentes combinaisons de micronutriments étudiés pour le rendement foliaire, les constituants chimiques et les caractères économiques avec la méthode d'Arunachalam et Bandyopadhyay (1984), où les valeurs les plus basses signifient le classement le plus élevé. Il est évident d'après ce Tableau que parmi les différentes combinaisons de micronutriments, le traitement M2, c'est-à-dire l'application foliaire de [Mn (1,50) + Cu (0,05) + B (0,05) + Mo (0,002) + Zn (0,25) + Fe (0,05)] kg / ha / récolte est la meilleure combinaison.

On a testé le mélange de micronutriments M2 dans trois Etats en Inde, c'est-à-dire le Jharkhand, l'Andhra Pradesh et l'Orissa dans le cadre d'un essai dans plusieurs localités et on a finalement étendu la technologie aux fermiers dans les trois états ci-dessus, par le biais des Centres de Vulgarisation de la Recherche. Les données analysées sur le plan statistique révèlent que le mélange de micronutriments M2 a amélioré le rendement foliaire et les caractères des cocons de manière significative (Tableau IV). Le rendement foliaire augmente de 36,27 % au niveau des Centres et de 31,84 % au niveau des fermiers.

D'après cette étude, on peut donc conclure que parmi toutes les combinaisons de micronutriments étudiés, la combinaison M2, c'est-à-dire l'application foliaire de [Mn (1,50)+ Cu (0,05) + B (0,05) + Mo (0,002) + Zn (0,25) + Fe (0,05)] kg /ha / récolte est la meilleure combinaison pour l'amélioration du rendement et de la qualité de la feuille de *T. arjuna*.

UTILITY SCOPE OF HYBRIDIZATION IN SEED PRODUCTION OF TROPICAL TASAR SILKWORM *ANTHERAEA MYLITTA* D.

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

Central Tasar Research & Training Institute, Central Silk Board, Piska Nagri, Ranchi - 835 303, (Jharkhand), India.

*F1 crossings as (Daba × Jata) and (Daba × Raily) and BC1 crossings as [Daba × (Jata × Daba)] and [Daba × (Raily × Daba)], keeping selfing of Daba ecorace (Daba × Daba) as control, using three diversified ecoraces viz., Daba, Jata and Raily of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. have been carried out during seed and commercial crop seasons to study the impact of the hybrid vigour on coupling, fecundity, hatching and fertility and utility scope in seed production. The coupling percentage of 83.3 & 87.5, fecundity of 271 & 264 eggs/df, hatching percentage of 77.5 & 83.6 and fertility percentage of 94.1 & 94.0 were recorded in F1 Daba × Jata in both the grainage seasons respectively. Better fecundity of 237 & 251 and at par performance with control in coupling, hatching and fertility has been recorded in BC1 [Daba × (Jata × Daba)]. Except for better fertility (90.9 & 91.4) in F1 Daba × Raily, all other F1 and BC1 combinations of Raily have recorded negative performance over control. The results reveal that there is an ample scope of utilizing hybridization in improving the tasar seed productivity and quality. Based on this inference molecular marker studies can also be taken up to see the variability pattern in their respective components.*

Keywords: *Antheraea mylitta*, fecundity, fertility, hatching, coupling.

INTRODUCTION

The fecundity, fertility and hatching of egg have direct correlation to the success of cocoon crop and silk production rate in tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. The timely availability of viable male moths is always a constraint and only 60-70 percent females were used effectively in tasar commercial seed production. The quality of silkworm seed in terms of richness of laying, viability and uniform hatching leads to successful progeny (Ullal and Narasimhanna, 1978). The male derived factors in mating influences the fertility and fecundity (Engelmann, 1970; Lawrence, 1990; Ravikumar *et al.*, 1995) and the size, weight and hatching of the egg depend on the day it laid and shows descending trends as days advances (Ahsan *et al.*, 1974). Total or partial dominance of gene action is responsible in controlling hatching (Jolly *et al.*, 1971). The range of mating propensity (15 to 86%) among different ecoraces indicates their sexual divergence (Srivastava *et al.*, 1998). The high yielding segregants can be developed by involving parental ecoraces Daba, Raily and Sukinda (Suryanarayana *et al.*, 1987) and the cross of Daba × Raily ecoraces showed better heterosis for fecundity and hatching (Naqvi *et al.*, 2004). The males of the different breed and their vigour influence fecundity and hatching (Krishna Prasad *et al.*, 2002) and the grainage performance in *Bombyx mori* L (Benjamin *et al.*, 1988; Chinnaswamy, 1990; Ravishankar, 1991; Ramakumar, 1995; Rajanna *et al.*, 1999). The utilization of various bivoltine breed / hybrid males for preparation of seed was studied in *Bombyx mori* (Benjamin *et al.*, 1988; Rajanna *et al.*, 1999) and the males and females fecundity and fertility in *Antheraea mylitta* was reported declining as age advances (Rath, 2000; Rath *et al.*,

* Email: dr.manohar@1959rediffmail.com

2007). However the information on the utility scope of hybridization on tasar seed productivity and its quality is lacking and hence the present study has been carried out.

MATERIALS AND METHODS

The virgin female moths emerged out of diapausing and non-diapausing pupae of ecorace Daba (bivoltine) of tasar silkworm *Antheraea mylitta* were used for studying the grainage performance crossing with Daba male (selfing-D×D) as control C with Jata male (D×J) F1 as T1, with Raily male (D×R) F1 as T2, with [D×(J×D)] male BC1 as T3 and with [D×(R×D)] male BC1 as T4 at grainage house of Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi during 2007 with six replications per combination in seed and commercial crop seasons. The freshly emerged males of different ecoraces and hybrids were coupled with females of Daba separately at 8.00 AM in cocoon cages. The mating/coupling percentage (CPP) was recorded combination wise. After allowing the mating period of 8 hours i.e. up to 4.00 PM, the females were decoupled and kept individually in sweet boxes for ovipositing. Eggs of each female moth were collected after 72 hours, the fecundity (FEC) recorded and incubated at optimal conditions till hatching. The day wise hatching was recorded for three days to calculate the hatching percentage (HAP), unhatched egg number and percentage. The hatching was allowed till last to know the fertilized egg number and percentage, unfertilized egg number and percentage and the data were subjected to statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The results on grainage parameters like coupling, fecundity, hatching and fertility in respect of control and treatments were presented in Table-I. The highest coupling percentage of 83.3 & 87.5 was recorded in T1 (F1) followed by 73.3 & 75.0 in T3 (BC1), 56.7 & 62.5 in T2 (F1) and 46.7 & 45.8 in T4 (BC1) as against 80.0 & 79.2 in control (D×D) in seed and commercial seasons respectively. The fecundity of 271 & 264 eggs/df1 was recorded in T1 (F1) followed by T2 (F1) with 151 & 163, T3 (BC1) with 237 & 251 and T4 (BC1) with 182 & 194 against 206 & 213 in selfing of Daba ecorace i.e. control in both the grainage seasons. The highest hatching percentage of 77.5 & 83.6 was recorded in T1 (F1) followed by 70.8 & 73.1 in T3 (BC1), 64.9 & 63.4 in T2 (F1), 47.3 & 51.0 in T4 (BC1) as against 71.2 & 74.2 in control. The percentage of fertilized eggs was 94.1 & 94.0 in T1 (F1) followed by 90.9 & 91.4 in T2 (F1), 91.1 & 89.5 in T3 (BC1) and 70.9 & 69.9 in T4 (BC1) as that of 90.6 & 87.2 in control.

The coupling percentage of T1 (F1) where the male component is Jata race was the highest over the control i.e. selfing (D×D), indicates variable mating propensity among different ecoraces and the performance role of male breed (Srivastava *et al.*, 1998, Chinnaswamy, 1990; Ravishankar, 1991; Ramkumar, 1995). The poor coupling recorded in T2 (F1) might be due to least mating propensity of the Raily race male component and the performance of T3 (BC1) at par with control and T4 (BC1) least among all the treatments are also like one of their parental races i.e. Jata and Daba respectively in their coupling behavior.

The levels of fecundity in T1 (F1) which are superior over the control indicates the heterotic effect in addition to better potency of Jata race male, which might transfer adequate sperms, spermatid fluid, along with the secretions of male accessory glands. The poor fecundity recorded in T2 (F1) might be due to insufficient fecundity enhancing substances (FES) and sperms by the respective male. These observations are in conformity with the findings of Gillot and Friedel, 1977; Kishorekumar and Paul, 1993; Singh *et al.*, 1994; Ravikumar *et al.*, 1995; Krishnaprasad *et al.*, 2002. The better fecundity of T3 (BC1), where the male component is F1 hybrid, indicates the possible influence of additive gene action (Siddiqui *et al.*, 1988; Sinha *et al.*, 1993) for fecundity.

Table I. Effect of hybrid vigour on the grainage parameters.

Tableau I. Effet de la vigueur hybride sur les paramètres de grainage.

Season <i>Saison</i>	Combination <i>Combinaison</i>	CPP	FEC	HAP	Fertilised eggs		Unhatched eggs		Unfertilised eggs	
					Nos	%	Nos	%	Nos	%
					<i>Oeufs fécondés</i>		<i>Oeufs n'ayant pas éclos</i>		<i>Oeufs non fécondés</i>	
					<i>Nbre</i>	%	<i>Nbre</i>	%	<i>Nbre</i>	%
June-July	C [D×D]	80.0	206	71.2	187	90.6	40	19.6	19	09.4
	T1 [D×J] F1	83.3	271	77.5	255	94.1	47	16.7	16	05.9
	T2 [D×R] F1	56.7	151	64.9	138	90.9	39	26.0	13	09.1
Juin-Juillet	T3 D×[J×D] BC1	73.3	237	70.8	216	91.1	49	20.2	21	08.9
	T4 D×[R×D] BC1	46.7	182	47.3	130	70.9	43	23.5	52	29.1
Sept-Octo.	C [D×D]	75.8	213	74.2	186	87.2	28	13.0	28	12.8
	T1 [D×J] F1	87.5	264	83.6	248	94.0	28	10.4	16	06.0
	T2 [D×R] F1	62.5	163	63.4	149	91.4	46	27.9	14	08.6
	T3 D×[J×D] BC1	75.0	251	73.1	225	89.5	41	16.5	26	10.5
	T4 D×[R×D] BC1	45.8	194	51.0	136	69.9	37	18.9	58	30.1
	CD at 5%									
	Treatment / <i>Traitement</i>	7.5	29	8.0	29	5.5	15	5.8	12	5.5
	Season / <i>Saison</i>	0.1	25	4.6	24	4.6	13	4.9	10	4.6
	S×T	0.1	33	6.3	33	6.3	17	6.7	14	6.3

CPP = Coupling percentage / *Pourcentage d'accouplement*; FEC = Fecundity / *Fécondité*; HAP = Hatching percentage / *Pourcentage d'éclosion*.

C = Selfing / *Intracroisement* [Daba × Daba];

T1 = F1 [Daba × Jata];

T2 = F1 [Daba × Raily];

T3 = BC1 [Daba × (Jata × Daba)];

T4 = BC1 [Daba × (Raily × Daba)];

The superior performance in hatching and fertility by T1 (F1) among all the treatments and the performance of T3 (BC1) at par with the control indicates the vigour of male component of breed (Benchamin *et al.*, 1988; Rajanna *et al.*, 1999) and better heterotic effect on hatching at F1 (Naqvi *et al.*, 2004). The variation in hatching levels among different treatments indicates the impact of male mates of pure, F1 and BC1 sources on reproductive performance of female insects and their fertility (Sidhu *et al.*, 1967) and might also be due to varied heterotic effects with different male combinations at F1 and BC1 levels (Suryanarayana *et al.*, 1987; Siddiqui *et al.*, 1988; Sinha *et al.*, 1993; Naqvi *et al.*, 2004).

The findings indicated superiority of the combination of F1 "(Daba × Jata)" over the control in all the grainage commercial characters in both the seasons indicating the influence of hybridization on the seed. In case of "[Daba × (Jata × Daba)]" the results on fecundity were significantly superior, whereas fertility, hatching and coupling were on par with the control reveal scope of recurrent selection approach in improving the seed productivity and quality. The results reveal that there is an ample scope of utilizing hybridization in improving the tasar seed productivity and quality. Based on this inference molecular marker studies can also be taken up to see the variability pattern in their respective components.

ACKNOWLEDGEMENTS

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

REFERENCES

- AHSAN.M.M., JOLLY.M.S., KATHRI.R.K. (1974), Some preliminary studies on the various aspects of grainage in tasar silkworm (*Antheraea mylitta* D); Proceeding of the 1st international seminar on non-mulberry silk, CTR&TI, Central Silk Board, Ranchi, October 3-4, p.158-169.
- BENCHAMIN. K.V., JOLLY. M.S., BENJAMIN.D.A.I. (1988), Studies on reciprocal crosses of Multivoltine and bivoltine breeds in silkworm, *Bombyx mori* L. with special reference to the use of bivoltine hybrid as parent. *Indian J. Seric.* 27 (1): 27-34.
- CHINNASWAMY.K.P. (1990), Sustainable use of male silkmths of *Bombyx mori* L in egg production. Natural resources management M. Sc thesis, Agricultural University of Norway, Norway, p.119.
- ENGELMANN.F. (1970), Physiology of Insect reproduction. Pergamon press, New York, p.195.
- GILLOT.C., FRIEDEL.T. (1977), Fecundity enhancing and receptivity inhibiting substances produced by male insects, in Advance in invertebrate reproduction (ed. K.G.Adiyodi & R. G. Adiyodi) Vol.1 p.199-218.
- JOLLY.M.S., NARASIMHANNA.M.N., RAZAN.J.L. (1971), Heterosis and combining ability study in inbred lines of *Antheraea mylitta* Drury. *Indian J. Herid.* 3: 32-36.
- KISHOREKUMAR.C.M., PAUL.D.C. (1993), Effect of age of male on ejaculation and behaviour of spermatozoa in the internal reproductive organs of the female moth, *Bombyx mori* L (Lepidoptera : Bombycidae). *Sericologia* 33(2): 219-222.
- KRISHNAPRASAD.N.K., SANNAPPA.B., VARALAKSHMI.R. (2002), Effect of multiple mating on grainage performance of newly evolved bivoltine breeds of *Bombyx mori* L. *Bull. Ind. Acad. Seric.* 6(2): 50-55.
- LAWRENCE.W.S. (1990), Effect of body size and repeated matings in female milkweed beetle reproductive success. *Ann. Ent. Soc. Am.* 83(6): 1096-1100.
- 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.

- RAJANNA, K.L., JAGADEESH.N., PUTTASWAMY GOWDA., NAIR.B.P., SAMSON.M.V. (1999), Performance of Pure Mysore × Bivoltine hybrid combinations of silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.* 38(2): 113-118.
- RAMAKUMAR.S.R. (1995), Grainage technology for two new breeds of Mulberry silkworm, *Bombyx mori*. L M.Sc (Seri) thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, p.174
- RAVIKUMAR.G., RAJESHWARY.H., OJHA.N.G., THANGAVELU.K. (1995), Effect of multiple mating on fecundity and fertility in the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D (Lepidoptera : Saturniidae). *Entomon*, 20 (1): 15-17.
- RATH.S.S. (2000), Survival probability and fertility in male moths of *Antheraea mylitta* D. (Lepidoptera : Saturniidae) during aging. *Int. J. Wild Silkworm*, 5: 39-42.
- RATH. S.S., RAJNARAIN., SINGH,M.K., SURYANARAYANA.N. (2007), Effect of mating delay and mating duration on reproductive performance of *Antheraea mylitta*. *Int. J. Indust. Entomol.* 14 (2): 113-119.
- RAVISHANKAR.M.S. (1991), A project report on post graduate diploma in Sericulture. University of Agricultural Sciences, Bangalore, p.100
- SIDDIQUI.A., SENGUPTA.A.K., AJITKUMAR., DAS' MAHAPATRA.D.P., SENGUPTA. A.K. (1988), Studies on the genetic architecture and gene action in yield and yield components in diallel population of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta* D. *Sericologia*, 28 (1): 107-113.
- SIDHU.N.S., SREENIVASAN.R., SHAMACHARY. (1967), Fertility performance of female moth depends on their male. *Indian J. Seric.* 6: 77-82.
- SINHA.A.K., SIDDIQUI.A.A., SENGUPTA.A.K., SHARMA.K.K., SINHA.B.R.R.PD. (1993), Genetic variability in tasar silkworm (*Antheraea mylitta* Drury) *J. Cytol. Genet.* 28: 77-80.
- SRIVASTAVA.A.K., KAR.P.K., SINGH.R., CHATURVEDI.H.K., DUTTA.R.K. (1994), Fecundity of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L in relation to female cocoon weight and repeated mating. *Indian J. Seric.* 33: 70-71.
- SRIVASTAVA.A.K., SINGH.B.M.K., KAR.P.K., SINHA.A.K., NAQVI.A.H., SINHA.B.R.R.P., SINHA.S.S. (1998), Sexual divergence in allopatric populations of *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera : Saturniidae) *Perspectives in Cytology and Genetics*, (Eds G K Manna and S C Roy, AICCG Publ., Kalyani Univ.), 9: 659-664.
- 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.
- ULLAL.S.R., NARASIMHANNA M N. (1978), Hand book of practical Sericulture, Central Silk Board, Bombay, p.219.

UTILITE DE L'HYBRIDATION DANS LA PRODUCTION DE GRAINES DU VER A SOIE TASAR TROPICAL, *ANTHERAEA MYLITTA* D.

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

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

*On réalisé des croisements F1 (Daba × Jata) et (Daba × Raily) et des croisements BC1 [Daba × (Jata × Daba) et [Daba × (Raily × Daba)], en conservant l'intracroisement de l'écorace Daba (Daba × Daba) comme témoin, en utilisant trois écoraces diversifiées du ver à soie tasar tropical *Antheraea mylitta* D, c'est-à-dire Daba, Jata et Raily pendant les saisons de récoltes de grainage et commerciale afin d'étudier l'impact de la vigueur hybride sur l'accouplement, la fécondité, l'éclosion et la fertilité et l'importance de leur utilité dans la production de graines. On enregistre un pourcentage d'accouplement de 83,83 et 87,5 %, une fécondité de 271 et 264 œufs / ponte saine, un pourcentage d'éclosion de 77,5 et 83,6 et un pourcentage de fertilité de 94,1 et 94 % en F1 chez Daba × Jata respectivement pendant les deux saisons de grainage. On enregistre une meilleure fécondité de 237 et de 251 et une performance égale à celle du témoin pour l'accouplement, l'éclosion et la fertilité en BC1 [Daba × (Jata × Daba). Toutes les autres combinaisons de Raily en F1 et BC1 ont enregistré une performance négative par rapport au témoin, à l'exception d'une meilleure fertilité pour Daba × Raily en F1 (90,9 et 91,4). Les résultats montrent qu'il existe des possibilités importantes pour utiliser l'hybridation afin d'améliorer la productivité et la qualité de la graine tasar. Compte tenu de cette conclusion, il serait aussi possible d'entreprendre des études sur les marqueurs moléculaires pour observer la structure de la variabilité de leurs composants respectifs.*

INTRODUCTION

La fécondité, la fertilité et l'éclosion des œufs sont directement corrélées au succès de la récolte de cocons et avec le taux de production de soie chez le ver à soie *Antheraea mylitta* D. La disponibilité de papillons mâles viables en temps voulu est toujours une contrainte et on n'utilise efficacement que 60 à 70 % des femelles dans la production commerciale de graines tasar. La qualité de la graine de ver à soie, en termes de richesse de ponte, de viabilité et d'éclosion uniforme donne une descendance réussie (Ullal et Narasimhanna, 1978). Les facteurs provenant du mâle dans l'accouplement influencent la fertilité et la fécondité (Engelmann, 1970 ; Lawrence, 1990 ; Ravikumar et coll., 1995) et la taille, le poids et l'éclosion de l'œuf dépendent du jour où il est pondue et ils présentent des tendances à la baisse au fur et à mesure que les jours avancent (Ahsan et coll., 1974). La dominance totale ou partielle de l'action d'un gène est responsable du contrôle de l'éclosion (Jolly et coll., 1971). Le degré de propension à l'accouplement (15 à 86 %) parmi les différentes écoraces indique leur divergence sexuelle (Srivastava et coll., 1998). On peut mettre au point des ségréants à rendement élevé en ayant recours aux écoraces parentales Daba, Raily et Sukinda (Suryanarayana et coll., 1987) et le croisement des écoraces Daba × Raily présente la meilleure hétérosis pour la fécondité et l'éclosion (Naqvi et coll., 2004). Les mâles des différentes lignées et leur vigueur influencent la fécondité, l'éclosion (Krishna Prasad et coll., 2002) et la performance de grainage de *Bombyx mori* L. (Benjamin et coll., 1988 ; Chinnaswamy, 1990 ; Ravishankar, 1991 ; Ramakumar, 1995 ;

* dr.manohar1959@rediffmail.com

Rajanna et coll., 1999). On a étudié l'utilisation de mâles de lignées pures ou d'hybrides bivoltins différents chez *Bombyx mori* pour la préparation des graines (Benchamin et coll., 1988 ; Rajanna et coll., 1999) et on a signalé que la fécondité et la fertilité des mâles et des femelles d'*Antheraea mylitta* baisse alors que l'âge avance (Rath, 2000 ; Rath et coll. ; 2007). Cependant, on manque d'informations sur l'utilité de l'hybridation pour la productivité et la qualité des graines tasar, ce qui justifie cette étude.

MATERIELS ET METHODES

On utilise des papillons femelles vierges venant de sortir de la diapause et des chrysalides sans diapause de l'écovace Daba (bivoltine) du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* pour étudier la performance de grainage, que l'on croise avec un mâle Daba (intracroisement – $D \times D$) comme témoin C, avec un mâle Jata ($D \times J$) en F1 soit T1, avec un mâle Raily ($D \times R$) en F1 soit T2 avec un mâle en BC1 [$D \times (J \times D)$] soit T3 et avec un mâle en BC1 [$D \times (R \times D)$] soit T4 dans la magnanerie de grainage du *Central Tasar Research & Training Institute* à Ranchi en 2007, avec six répétitions par combinaison pendant les saisons de récolte commerciale et de grainage. On accouple séparément les mâles venant d'émerger des écovaces et hybrides différents avec les femelles de Daba à 8 heures du matin dans des cages à cocons. On enregistre le pourcentage d'accouplement (CPP) en fonction de la combinaison. Après la période d'accouplement de 8 heures, c'est-à-dire à 16 heures, on désaccouple les femelles et on les conserve individuellement dans des boîtes à bonbons pour la ponte. On recueille les œufs de chaque papillon femelle au bout de 72 heures, on enregistre la fécondité (FEC) et on les incube dans des conditions optimales jusqu'à l'éclosion. On enregistre l'éclosion pendant trois jours pour calculer le pourcentage d'éclosion (HAP) et le nombre et le pourcentage d'œufs n'ayant pas éclos. On laisse l'éclosion se produire jusqu'au dernier œuf pour connaître le nombre et le pourcentage d'œufs fécondés, le nombre et le pourcentage d'œufs non fécondés et on soumet les données à l'analyse statistique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats concernant les paramètres de grainage comme l'accouplement, la fécondité, l'éclosion et la fertilité pour le témoin et les traitements sont présentés dans le Tableau I. On enregistre le pourcentage d'accouplement le plus élevé de 83,3 et 87,5 avec T1 (F1) suivi par 73,3 et 75,0 avec T3 (BC1), 56,7 et 62,5 avec T2 (F1) et 46,7 et 45,8 avec T4 (BC1) contre 80,0 et 79,2 chez le témoin ($D \times D$), respectivement pendant les saisons de grainage et commerciale. On enregistre une fécondité de 271 & 264 œufs / ponte saine avec T1 (F1), suivi par T2 (F1) avec 151 & 163, par T3 (BC1) avec 237 & 251 et par T4 (BC1) avec 182 & 194, contre 206 & 213 avec l'intracroisement de l'écovace Daba, c'est-à-dire le témoin pendant les deux saisons de grainage. On enregistre le pourcentage d'éclosion le plus élevé de 77,5 et 83,6 avec T1 (F1), suivi par 70,8 et 73,1 avec T3 (BC1), 64,9 et 63,4 avec T2 (F1), 47,3 et 51,0 avec T4 (BC1), contre 71,2 et 74,2 % chez le témoin. Le pourcentage d'œufs fécondés est de 94,1 et 94,0 avec T1 (F1) suivi par 90,9 et 91,4 avec T2 (F1), 91,1 et 89,5 avec T3 (BC1) et de 70,9 et 69,9 avec T4 (BC1) et celui du témoin de 90,6 et de 87,2 %.

Le pourcentage d'accouplement de T1 (F1) où le composant mâle est la race Jata est le plus élevé par rapport au témoin, c'est-à-dire l'intracroisement ($D \times D$), ce qui indique une propension variable à l'accouplement parmi les différentes écovaces et le rôle de la lignée mâle (Srivastava et coll., 1998, Chinnaswamy, 1990 ; Ravishankar, 1991 ; Ramkumar, 1995). Parmi tous les traitements, le mauvais accouplement enregistré avec T2 (F1) pourrait être dû à la propension moins importante à l'accouplement du composant mâle Raily ; la performance de T3 (BC1) égale à celle du témoin et la moins bonne de T4 (BC1) proviennent aussi du comportement d'accouplement des races parentales, respectivement Jata et Daba.

Les niveaux de fécondité avec T1 (F1), qui sont supérieurs à ceux du témoin indiquent non seulement la meilleure virilité mais aussi l'effet hétérotique des mâles de la race Jata, qui transfèrent

les spermatozoïdes et le liquide séminal appropriés avec les sécrétions des glandes accessoires mâles. La mauvaise fécondité enregistrée avec T2 (F1) pourrait être due à l'insuffisance des substances augmentant la fécondité (FES) et des spermatozoïdes chez les mâles respectifs. Ces observations sont en accord avec les observations de Gillot et Friedel, 1977 ; Kishorekumar et Paul, 1993 ; de Singh et coll., 1994 ; de Ravikumar et coll. ; 1995 ; et de Krishnaprasad et coll., 2002. La meilleure fécondité de T3 (BC1), où le composant mâle est l'hybride F1, indique l'influence possible de l'action additive des gènes (Siddiqui et coll., 1988 ; Sinha et coll., 1993) pour la fécondité.

Parini tous les traitements, la performance d'éclosion et de fertilité supérieure de T1 (F1) et la performance de T3 (BC1) égale à celle du témoin indiquent la vigueur du composant mâle de la lignée (Benjamin et coll., 1988 ; Rajanna et coll., 1999) et le meilleur effet hétérotique sur l'éclosion en F1 (Navqi et coll., 2004). La variation des niveaux d'éclosion parmi les différents traitements indique l'impact des mâles provenant de sources pures en F1 et BC1 sur la performance de reproduction des insectes femelles et sur leur fertilité (Sidhu et coll., 1967) et cela pourrait aussi être dû à différents effets hétérotiques, avec différentes combinaisons de mâles aux niveaux F1 et BC1 (Suryanarayana et coll., 1987 ; Siddiqui et coll., 1988 ; Sinha et coll., 1993 ; Naqvi et coll., 2004).

Les résultats indiquent la supériorité de la combinaison F1 (Daba × Jata) par rapport au témoin pour tous les caractères commerciaux de grainage pendant les deux saisons, ce qui indique l'influence de l'hybridation sur la graine. Dans le cas de [Daba × (Jata × Daba)] les résultats pour la fécondité sont supérieurs de manière significative, tandis que la fertilité, l'éclosion et l'accouplement sont égaux à ceux du témoin, ce qui révèle des possibilités pour une approche de sélection récurrente afin d'améliorer la productivité et la qualité de la graine. Les résultats montrent que l'utilisation de l'hybridation renferme d'importantes possibilités pour améliorer la productivité et la qualité de la graine tasar. Compte tenu de cela, des études sur les marqueurs moléculaires pourraient aussi être entreprises pour observer la variabilité de la structure de leurs composants respectifs.

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 × 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

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

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

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

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

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

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

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

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

2) Papers should be submitted to: **Dr G. CHAVANCY** 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.