

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*)

Revues / Reviews

- Silkworm food plants apply dimension under Indian condition – time for utility optimization and value addition 1**
 Applications des plantes hôtes du ver à soie dans les conditions indiennes – optimisation de leur utilité et de leur valeur ajoutée 19
 R. MANOHAR REDDY

- Application of biotechnological tools in tasar culture 31**
 Application des outils biotechnologiques dans l'élevage du tasar 37
 P. K. TEWARY, P. K. KAR, O. P. DUBEY, M. K. SINGH & N. B. VIJAYAPRAKASH

Articles scientifiques / Scientific papers

- Role of haemolymph cations in high temperature tolerance in the silkworm, *Bombyx mori* L. 43**
 Rôle des cations de l'hémolymphe dans la tolérance à la température élevée chez le ver à soie *Bombyx mori* L. 57
 FIRDOSE AHMAD MALIK & Y. SRINIVASA REDDY

- Rate of horizontal and vertical transmission of NIK-5hm, a new microsporidian Sp., causing pebrine disease in the silkworm, *Bombyx mori* L. 63**
 Taux de transmission horizontale et verticale de NIK-5hm, une nouvelle espèce de microsporidie provoquant la maladie de la pébrine chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. 71
 T. SELVAKUMAR, B. NATARAJU, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S. D. SHARMA, K. CHANDRASEKHARAN & P. SUDHAKARA RAO

- Input output relationship in sericulture in Karnataka – an economic analysis 77**
 Analyse économique sur la relation facteur de production – production en sériculture au Karnataka 85
 RAVENDRA MATTIGATTI, B. P. VEERABHADRAPPA & C. K. RENUKARYA

Rapports techniques / Technical reports

- Oak tasar chawki silkworm supply needs popularization 91**
 Popularisation de la fourniture de jeunes vers à soie tasar du chêne – une nécessité 97
 B. M. K. SINGH, R. N. DUTTA, SURESH RAI, S. K. SINHA & N. B. VIJAY PRAKASH

- Impact of light treatment on pupal weight loss and moth emergence in *Antheraea proylei* J. (Lepidoptera : Saturniidae) 101**
 Impact du traitement à la lumière sur la perte de poids nymphal et l'émergence des papillons chez *Antheraea proylei* J. (Lépidoptère : Saturniidae) 109
 REETA LUIKHAM, T. JAMES KEISA, K. CHAOBA SINGH, BIREN RANA & R. VARATHARAJAN

- Evaluation of some botanicals, antibiotics, carbon source and carrier against the bacterial disease of muga silkworm, *Antheraea assamensis* 113**
 Evaluation de substances botaniques, d'antibiotiques, de source de carbone et de transporteur contre la maladie bactérienne du ver à soie muga, *Antheraea assamensis* 123
 PRANAB DUTTA, K. NEOG, R. DAS, K. DAS, P. K. HANDIQUE & R. CHAKRAVORTY

Notes brèves / Brief notes

- Effect of refrigeration of non-diapause eggs of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.** 129
Effet de la réfrigération d'oeufs du ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L. sans diapause . 133
RAVINDRA SINGH, R. NIRUPAMA & D. GANGOPADHYAY
- Differential ability of different natural essential oils combined with spearmint oil for the management of uzi fly** 135
Capacité différentielle de différentes huiles essentielles naturelles associées à l'huile de menthe verte pour lutter contre la mouche uzi 141
B. M. PRAKASH, SUMITHRA, H. RAVIKUMAR & H. P. PUTTARAJU

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

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

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

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

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

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

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

- Acknowledgements.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

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

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

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

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

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

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

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

- Remerciements.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SILKWORM FOOD PLANTS APPLY DIMENSION UNDER INDIAN CONDITION - TIME FOR UTILITY OPTIMIZATION AND VALUE ADDITION

R. MANOHAR REDDY

Central Tasar Research and Training Institute, Central Silk Board, P.O. Piska Nagri,
Ranchi - 835 303, INDIA. e-mail: dr.manohar1959@rediffmail.com

Understanding the full scale rightful utility of the silkworm food plants is the imperative need to augment profits. The cuisine value of parts and forms of silkworm food plants suits for human diet as snacks, parata, pakoda, tea, jam, jelly, soft drink and wine in addition as feed for cattle, poultry, fish, rabbits, piggery and sheep. The leaves, fruits, bark of stem and root have applications in soap, cosmetic, fertilizer, biogas, fuel and paper industries and the decoction, alkaloids, proteins, amino acids are used as anti-inflammation, anti-bacterial, anti-viral, anti-fungal, blood pressure and diabetic medicines and are the rich source of vitamins A, B and C. The silkworm litter and bed refuse is effective substrate for organic manure, vermicompost, bio-gas, chlorophyll, carotene, phytol, tricontinol, pectin and mushroom production. The enzymes of food plants refuse have applications in pharmaceuticals, detergents, leather industry, starch processing, textile processing, bio-sensing, bio-transformations and bio-degradable plastics. The stems are used for basket, paper, toys, sport goods, charcoal and the trunk is of immense timber value for making furniture. The use of shoot extract as adhesive, branches as fuel energy, bark as artificial leather, wood ash as disinfectant, latex as skin ointment, fruit as fabric dye, root as promising medicine for AIDS indicates potential of their apply dimension. The perception and application of waste and by-product management for revenue count, employment generation will also brings down the cost of production and ensuring additional income in making sericulture more striking.

Keywords: Silkworm food plants, Apply dimension, Commercial prospective, By-product.

INTRODUCTION

Sericulture is practiced as an important agro based cottage industry in traditional sericultural countries of the world, which involves the chain activities of growing food plants, silkworms, conducting grainage and silk reeling leading to substantial quantities wastes as by-products. The considerable part being unused in food plants like leaf waste, shoot waste, litter and whole plant in non rearing seasons needs think for utility otherwise to make best out of it for price addition. It is high time for rational thinking to consume food plants as whole for building best possible revenue to bring down the production cost and for better sustenance of rural sericulture populace. India is the only country which produces all the commercially known silk varieties like Mulberry, Tasar, Eri and Muga and has bulky quantum as unused parts of their food plants and by-products. However, the present day's situation of uneven rainfall, erratic climate, high costs of labor-inputs and low cocoon rates force the growers to search for additional revenue by utilizing raw materials in full. The aggressive competition due to globalization made it further obligatory for stake holders to think on the break even returns from the activity. The situation is compelling world's sericulture fraternity for new arrangement and perception moves towards sustenance by diversification and effective operation to elevate earnings. The integrated approach of scientists, technocrats, bureaucrats, professional

faculties, scholars, non-governmental organizations, industrialists, entrepreneurs, exporters, traders, fashion designers, management officials and cross sections of the sericulture and silk industry is important to realize, discover and enlarge suitable expertise and to explore the use of raw materials in full to supplement the profit and returns. The present review attempts to direct the requisite of the day on fullest worth of silkworm food plants from root to fruit for utmost possible income to make sericulture commercially feasible and attractive.

PRESENT STATUS IN INDIA

Production of 16525, 1485, 350 and 115 MTs of Mulberry, Eri, Tasar and Muga raw silk and proportionate consumption of food plants in 191893, 59589, 111684, 16380 hectares respectively by India during 2006-07 indicate the colossal quantum of silkworm food plant waste as by-product raw material. The rearers do not often think about the refuse function value except for simple using as cattle feed, manure, edible fruits, firewood, timber ensuing ineffective use of valuable resources also resulting in environmental pollution. The main reasons for non-utilization of by-products are looking sericulture food plants only as silkworm feed and the want of supporting knowledge, dispensation technologies, dynamic entrepreneurs and most importantly the instant transaction outlets. The rural and low educational backdrop of sericulturists had simply thought of immediate disposal due to other overlapping works, ignoring the true potential of unexploited food plant material. However, the exemplar shift from traditional silk production to diversified high value by-products by South Korean's sericulture production technology during late 90's (Sharma and Sinha, 2000) was revolutionary, because no such change ever happened during the sericulture history over 3000 years in the world. Of late, the unsustainable returns in sericulture made the participants of India and other sericultural countries look at generate substantial income by converting the food plant raw material/refuse in to appreciate by-products helping judicious interaction with nature.

SILKWORM FOOD PLANTS APPLY DIMENSIONS

Human food application:

Mulberry leaves contain rich proteins, carbohydrates, sugars, starch, crude fibre, amino acids, vitamins A, B & C, minerals Ca, K, Na, Mg, Fe & Zn required for human nutrition. This great variety indicates leaf nutritive value (**Table-I**) and justifies why offering mulberry leaf juice is common hospitality in villages of China. Due to very low caffeine percentage (0.01%) in mulberry leaf the Mulberry Research Institute of Thailand has developed mulberry tea and started marketing it with brand name 'RANOWGHANA' and the fresh mulberry leaves are used for making dishes by the people of North-eastern part of Thailand (Shetty and Mohan, 2003). M/S Chul Thai Agro industries company, Thailand, used promoting mulberry derived products such as tea, wine, jam, ice creams etc., to increase the income of farmers (Aruga, 1994; Dandin, 2005). Indian food items like "parata", "pakoda", "saag", "dhokla", steamed products prepared from mulberry leaves are equally tasty and nutritious like any other leafy vegetables (**Table-II**) and few of them are even preferred to spinach and amaranth products by Indian people (Tewary and Rao, 1990; Srivastava *et al.*, 1997; Suryanarayana, 2002). Gabaron tea prepared from mulberry leaves using N₂ gas (Tsushida *et al.*, 1987), mulberry tea made by Hoshina Co Ltd., Saitama, Japan namely KUWACHA-(R) having action of alleviating high blood pressure (Omori *et al.*, 1987) and its aromatic amino acid, (GAMA) gamma-amino butyric acid content have food value (Shimizu *et al.*, 1992). The tea from mulberry leaf has been commercialized as healthy beverage in Japan, China, Thailand and also the caffeic acid, β -hydroxyanthranilic acids were extracted and used in food and confectionary preparations (Ramesh *et al.*, 2003).

Table I. Nutrient compositions of improved mulberry varieties (Suryanarayana, 2002).**Tableau I. Composition nutritionnelle des variétés de mûrier améliorées (Suryanarayana, 2002).**

Parameters / Paramètres	Anantha	V-1	S-13
Crude protein (g %) of dry weight <i>Protéines brutes (% en g) de poids sec</i>	29.56	31.23	28.61
Reducing sugar (g %) of dry weight <i>Sucres réducteurs (% en g) de poids sec</i>	1.56	1.45	1.61
Non-reducing sugar (g %) of dry weight <i>Sucres non réducteurs (% en g) de poids sec</i>	10.45	9.75	10.12
Non-reducing starch (g %) of dry weight <i>Amidon non réducteur (% en g) de poids sec</i>	9.75	10.15	9.50
Carbohydrates (g %) of dry weight <i>Hydrates de carbone (% en g) de poids sec</i>	23.14	24.15	22.40
Crude fibre (g %) of dry weight <i>Fibres brutes (% en g) de poids sec</i>	7.85	8.21	10.91
Free amino acids (mg/100g) of fresh weight <i>Acides aminés libres (mg / 100 g) de poids frais</i>	68.15	65.13	64.75
Chlorophyll 'a' (mg/g) of fresh weight <i>Chlorophylle 'a' (mg / g) de poids frais</i>	1.926	2.003	1.963
Chlorophyll 'b' (mg/g) of fresh weight <i>Chlorophylle 'b' (mg / g) de poids frais</i>	0.862	0.903	0.872
Moisture (%) of fresh weight / <i>Eau (%) sur poids frais</i>	75.09	75.40	70.88

Table II. Nutritive values of mulberry and spinach leaves (% of fresh weight) (Srivastava *et al.*, 1997)**Tableau II. Valeurs nutritives des feuilles de mûrier et d'épinard (% de poids frais) (Srivastava *et coll.*, 1997)**

Leaf variety	Moisture	Fat	Protein	Minerals
<i>Variété de feuille</i>	<i>Eau</i>	<i>Graisses</i>	<i>Protéines</i>	<i>Minéraux</i>
Mulberry / <i>Mûrier</i>	81.75	0.6	6.8	3.6
Spinach / <i>Epinard</i>	92.10	0.7	2.0	1.7

Table III. Constituents of mulberry fruit (% of fresh weight) (Kumaresan *et al.*, 2008).**Tableau III. Constituants du fruit du mûrier (% de poids frais) (Kumaresan *et coll.*, 2008).**

Parameters / Paramètres	Content Teneur
Water / Eau	85 - 88
Carbohydrates (glucose & fructose) / Hydrates de carbone (glucose et fructose)	7.8- 9.2
Protein / Protéines	0.4-1.5
Fat (linoleic, stearic & oleic acids) / Graisses (acides linoléique, stéarique et oléique)	0.4-0.5
Free acids (malic acid) / Acides libres (acide malique)	1.1-1.9
Fibre / Fibres	0.9-1.4
Minerals / Minéraux	0.7-0.9

Even in India, Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Mysore was licensed to produce mulberry tea 'SPOORTHY' (Iyengar, 2007b). The fruit sugar fructose and chlorophyll (C₅₅ H₇₂ MgN₄ O₅ RCH₃) extracted from silkworm litter is used in diet and for coloring food items (Mandal, 1991). Sodium copper chlorophyllin and pectin extracted from silkworm litter is used to make candies, jelly, jam, wine, concentrated fruit juices, canned fruits and vegetables besides as food additive (Raju, 1996; Srivastav *et al.*, 2007). In Greece, the fruits are fermented to derive intoxicating beverage and in most cold countries used for preparing special wine and beer (Shivakumar *et al.*, 1995). In addition of using the mulberry fruits for making jam, jelly and sherbet in India, a very popular lady wine drink is also prepared in Europe through fruit fermentation (Singhal *et al.*, 2001).

The fruits are rich in nutrients (Table-III) and useful to process for ice creams, jams, jellies, pies, pickles, tarts, puddings, sweetened and pureed as a sauce, blended with pears, apples and the products processed from mulberry fruits are sold in Japan, Korea and China. (Mandal, 1991; Singh and Ghosh, 1992; Chinnaswamy *et al.*, 1993, 2004; Dileepkumar and Das, 2000; Singh *et al.*, 2002; Barah *et al.*, 2007; Sinha, 2008). One hectare of mulberry field can produce fruits sufficient to produce 15 tons of mulberry drinks and high carbohydrate content, dominant taste, rich flavor of mulberry fruit make its juice is very popular in China, Japan and Korea. The anthocyanins like cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3-rutinoside are the natural red / purple food colorants of fruit and hence the mulberry fruit extracts were used as coloring and flavoring agents (Kumaresan *et al.*, 2008). The yield of 500-625 kg per hectare, 30-60% juice content, acceptable food colorant value and demand in China, Japan and Korea indicates the value addition potential of mulberry fruit cultivation (Masilamani *et al.*, 2008). The tuber of Eri food plant, *Manihot utilissima* (tapioca) is widely consumed as delicious snack, because of its rich carbohydrate, starch and glucose contents. The non-mulberry food plants *Zizyphus jujuba* (ber), *Carica papaya* (papaya), *Syztygium cumini* (Jamun) and *Tamarindus indica* (tamarind) yield very tasteful, palatable, acidic and astringent edible fruits and have very high potential commercial value (Narayanaswamy *et al.*, 1990; Sahay *et al.*, 1997; Naika *et al.*, 2000; Prakash *et al.*, 2003; Saratchandra, 2003). The Oak tasar food plant, *Castanea sativa* (chestnut) is cultivated in orchards

of Kashmir valley, Manali (Himachal Pradesh) and Doon valley (Uttar Pradesh) yield proteinaceous fruits of commercial importance (Pandey and Sumbli, 1997).

Animal feed application:

Mulberry leaves can be used as feed for rabbits, sheep, cattle, buffalos and accumulation of less fat and water in muscles, gaining better body weight and fur growth were noticed in rabbits (Aruga, 1994). The mountain sheep fed on mulberry leaves increased the yield; concentration and taste of milk (Aruga, 1994). The silkworm litter has got high nutritive value over wild grass; wheat bran and paddy husk (**Table-IV**) and can be preserved as ensilage to feed cattle during fodder shortage (Aruga, 1994).

Table IV. Feed values of silkworm litter, wild grass, wheat bran and paddy husk (in % of fresh weight) (Aruga, 1994; Majumder, 1997)

Tableau IV. Valeurs nutritives des litières de ver à soie, de l'herbe sauvage, du son de blé et de l'enveloppe du riz (en % de poids frais) (Aruga, 1994 ; Majumder, 1997).

Feed	Water content	Crude protein	Crude Fat	Crude fiber	Soluble non-nitrogenous matter
<i>Nourriture</i>	<i>Teneur en eau</i>	<i>Protéines brutes</i>	<i>Graisses brutes</i>	<i>Fibres brutes</i>	<i>Matière non azotée soluble</i>
Silkworm litter <i>Litière de ver à soie</i>	12.2	15.4	2.6	19.6	36.2
Wild grass s / <i>Herbe sauvage</i>	8.50	5.70	1.5	31.5	38.8
Wheat bran / <i>Son de blé</i>	11.2	18.3	3.4	9.90	51.0
Paddy husk / <i>Enveloppe du riz</i>	9.10	13.2	16.1	8.10	33.3

Due to the nutritive values over other regular forages (**Table-V**) and high productivity, the *Morus serrata* is grown exclusively for fodder purpose in the hilly region, Kumaon, UP, India. The unused leaf, bed refuse and litter of mulberry silkworm rearings are fed to cows, sheep, pigs, buffaloes, rabbits and poultry because of better nutritive values, increasing the milk yield in cattle but in China it preferred as feed in pisciculture and poultry (Dandin and Ramesh, 1987; Dwivedi, 1988; Bari, 1990; Singhvi and Sinha, 1991; Chinnaswamy *et al.*, 1993; Majumder, 1997; Radhakrishna *et al.*, 2000; Singhal *et al.*, 2001). Bio-processing of mulberry leaf by adding nutritional ingredients to make as potential fodder is one of the brighter futures of optimization of sericulture by-products utility (Ramesh *et al.*, 2003). Mulberry is excellent forage even over alfalfa and oats hay and can be grown as strategic forage in temperate as well as in tropical regions of the world. The production rate, nutrition levels, digestion energy, milk energy, crude proteins and amino acids of mulberry under

different cultivations, seasons and fertilizer inputs proved superior/ suitable to grow as large scale animal forage (Iyengar, 2008a). The leaves of Eri silk food plants, *M. utilis* (tapioca) and *Ricinus communis* (castor) are used as fodder for cattle and sheep/goats respectively and the leaves/ seeds of tasar food plants, *Terminalia* spp. are also used as fodder for sheep and cattle (Siddiqui, 1988; Tewary and Rao, 1990; Majhi *et al.*, 1991; Sahay *et al.*, 1997; Yadav *et al.*, 1997; Prakash *et al.*, 2003; Saratchandra, 2003; Singh *et al.*, 2004; Barman *et al.*, 2005; Rao, 2007; Singhvi *et al.*, 2008). The fruits of mulberry and non mulberry food plants are being consumed as food directly by crows, mini birds, pentatomid bugs, ants, dogs, wild animals etc., in the ecosystem (Srivastav *et al.*, 2007).

Table V. Chemical composition of common forages of south India (in % on dry basis) (Radhakrishna *et al.*, 2000).

Tableau V. Composition chimique des fourrages courants du sud de l'Inde (en % sur une base sèche) Radhakrishna et coll., 2000).

Fodder Name	Botanical name	Crude protein	Ether extract	Crude fibre	Total carbohydrates	Ash content
<i>Nom du fourrage</i>	<i>Nom botanique</i>	<i>Protéines brutes</i>	<i>Extrait éther</i>	<i>Fibres brutes</i>	<i>Ensemble des hydrates de carbone</i>	<i>Teneur en cendres</i>
Maize / Maïs	<i>Zea mays</i>	9.00	1.00	28.90	77.70	12.20
Jowar / Sorgho	<i>Andropogon sorghum</i>	4.60	1.50	38.80	85.30	9.10
Napier grass <i>Herbe aux éléphants</i>	<i>Pennisetum purpureum</i>	10.70	2.00	30.50	71.20	16.00
Rhodes grass <i>Herbe de Rhodés</i>	<i>Chloris gayana</i>	10.10	1.60	34.10	78.20	10.10
Mulberry / Mûrier	<i>Morus alba</i>	26.10	4.20	12.00	68.76	7.97

PHARMACEUTICAL AND RESTORATIVE APPLICATION

The mulberry leaves are good source of ascorbic acid, carotene, vitamin B1, C, folic acid, folinic acid, calcium, phosphorus, potassium, magnesium, aluminium, silica, sulphur, copper, zinc, boron, manganese and young leaves with xanthophyll, isoquercitrin, tannin, adenine, choline and trigoneline made suitable for medicine and restorative. The leaves are considered as diaphoretic, emollient the root extract as anthelmintic, astringent and fruits considered as laxative, checks thirst, cools blood and good drink during convalescence after febrile disease. The broth of stems and roots lowers the blood pressure fast when extracted using alcohol and the chlorophyll derived from litter is widely used in medicines (Tewary and Rao, 1990; Chinnaswamy *et al.*, 1993; Aruga, 1994; Majumder, 1997). The polyphenol of mulberry shoots improves hair growth in Angora rabbits and Colidale sheep and the combination of polysaccharides makes the skin and hairs soft, indicating its nutritive and therapeutic values (Aruga, 1994). The roots of *M. nigra* have special effect on glycogenolysis and

can be used as diabetic medicine for reducing the blood sugar levels. The deoxynojirimycin of mulberry leaf reduces blood glucose level, the GABA, gamma amino butyric acid helps in reducing blood pressure; phytosterol decreases the blood cholesterol (Bose and Bose, 1990; Tewary and Rao, 1990; Shetty and Mohan, 2003). The mulberry latex is used as dermal ointment due to its healing properties, the root juice of *M. nigra* reduces blood sugar, controls blood pressure, kills round worms, tape worms and hook worms with cathartic and anthelmintic properties and moranoline compounds are reported to be used in curing various diseases (Bose, 1987; Dandin and Ramesh, 1987; Ray, 1990; Tewary and Rao, 1990; Shivakumar *et al.*, 1995; Han *et al.*, 2002; Ramesh *et al.*, 2003). The glycoproteins purified from mulberry leaf are used in the typing of blood groups, purification of glycol-conjugates, studying simple and complex carbohydrates in solutions and on cell surfaces (Absar *et al.*, 1995). The chlorophyll (C₅₅ H₇₂ MgN₄ O₅ RCH₃) extraction from silkworm litter is cheap over conventional methods and is in demand internationally for pharmaceutical applications as healing agent, controlling bleeding of gums and tooth diseases. The Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine has developed 'GANXUEBAO' for treating hepatitis and leukemia from chlorophyll and reported efficiency rate of 95.6% for cancer patients suffering from loss of white blood cells due to chemotherapy and radiotherapy (Mandal, 1991). The powdered mulberry leaf drink in cold water has good medicinal value with pharmaceutical compounds of anti cancer and heavy metal absorption properties (Sharma and Sinha, 2000). The methanolic extract of mulberry root has anti-scorbutic, anti-helmintic, anti-inflammatory, anti-pyretic, oxidative and proliferative properties. The root derivatives, Morusin (morusin 4-glycoside) and Kuwanon are curative against HIV, the alkaloid, DNJ reported effective against AIDS virus and it has also been found that DNJ can control intestinal alpha glucosidases and decoction of root is used in acute nephritis (Suryanarayana, 2002; Ramesh *et al.*, 2003; Srivastav *et al.*, 2007).

The sugar and toxin free green tea is being propagated in place of tea, coffee, soft drinks and alcoholic beverages because of its medicinal values against diabetes, blood pressure, cholesterol, body fat, muscle cramps/pains, liver cancer, obesity, in regulating heart beating and increasing the natural activities of body organs (Shetty and Mohan, 2003). The chlorophyll, sodium copper chlorophyllin, pectin, phytol and carotene are being used in pharmaceuticals due to their anti-bacterial, anti-cholesterol, anti-triglyceride properties in preparing Chinese medicines GAN BAO, WEI GAN LU, GAN XUE BAO and more than 30 kinds of medicines of USA contain sodium copper chlorophyllin (Raju, 1996). The mulberry leaf juice prevents throat infections, endemic malaria, diarrhea, cold dyspepsia and melancholia, it controls high fever as febrifuge, diaphoretic, emollient, laxative and the stem bark is used as purgative and vermifuge (Tewary and Rao, 1990; Majumder, 1997). Deoxynojirimycin (DNJ) present in mulberry leaf inhibits the enzymatic property of sugar breaking to control AIDS. The glycoprotein 120, by surfacing HIV carrying sugar chains becomes inert to invade new cells in presence of DNJ and this has application in sugar related disease, diabetes (Ray, 1990; Tewary and Rao, 1990; Singh and Ghosh, 1992; Suryanarayana, 2002). The research works of Kataro Kanno of National Institute of Agrobiological Sciences, National Food Research Institute and Japan International Research centre's, Okinawa substation show that mulberry latex toxicity against caterpillars indicate that the plant latexes are good targets and bioactive materials to discover novel medicines. Further, the high concentrations of sugar mimic glycosidase inhibitors, 1,4-deoxy-1,4 imino-d-arabinitol, 1-deoxynojirimycin, 1,4-deoxy-1,4-imino-d-ribitol in mulberry leaves are reported to have anti diabetic activities by inhibiting alpha-glucosidase in order to establish greater glycemic control in type 2 diabetes (Bose and Bose, 1990; Ramesh *et al.*, 2003; Iyengar, 2007a). The mulberry leaf extract provides viable treatment for Alzheimer's disease (mental enfeeblement, loss of memory) through inhibition of amyloid beta-peptide (1-42) fibril formation and attenuation of neurotoxicity induced by amyloid beta-peptide, anti-oxidative substances to prevent atherosclerosis (deposition of lipids in arteries) by reducing fat up to 40%, the leaf flavonoids could control hyperlipidemia supporting lipid-favorable activity (Iyengar, 2007b). The mulberry fruit wine

helps in getting rid of impurities and coprostitis (faecal residue in the intestines) to have slim body and good health (Sinha, 2008). The fruit is also used in treating weakness, fatigue, anemia, dizziness, constipation, depression, calming the nerves, enhancing immunity, indigestion, chronic gastritis, hepatitis, pallor (paleness), insomnia, heart palpitations, dry eyes, improving sight, premature aging, graying hair, impotence, tonify vitality and as restorative after major operations. The fruit juice is dominant antioxidant, immune enhancer, cardio-vascular protector, anti-viral, stress reducer and anthocyanins of juice acts as blood circulation improvers, resveratrol helps as nutritional supplement. In China, the paste of mulberry is sold as 'Sangshengao' to enrich liver, kidney, hearing and eye brightness (Kumaresan *et al.*, 2008). The anthocyanin of mulberry fruit have many physiological benefits like anti-oxidant, anti-cancer, improvement of vision, induction of apoptosis in adenocarcinoma cells and another antioxidant C3G known to inhibit inflammatory response of UV light, serum triglyceride and high density lipoprotein-cholesterol. The activity of antioxidant enzymes like glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) is increased by adding mulberry leaf extract in several animal and plant infection conditions (Tripathi *et al.*, 2008). The mulberry has therapeutic values for arthritis, dyspepsia, melancholia, nervous disorders, skin treatment, constipation, hypertensive and hypoglycemic. The butyl deoxynojirimycin (Butyl DNJ) was found more effective against AIDS and another form of DNJ, homonojirimycin was effective in controlling diabetes and has special efficiency on pancreas glycogenolysis (Suryanarayana, 2002). Tassar plants besides being the food of silkworms are also used by aboriginals residing in the forest ecosphere as medicines. The different parts of non-mulberry food plants of *Terminalia spp.*, *Shorea robusta*, *Ficus spp.*, *Zizyphus spp.*, *Tectona grandis*, *Madhuka longifolia*, *Psidium guajava*, *Eugenia cumini*, *Careya arborea*, *Ricinus communis*, *Celastrus spp.*, *Cassia auriculata*, *Bauhinia spp.*, *Buchmanian lanzen*, *Semecarpus anacardium*, *Holarrhema antidysenterica*, *Carissa carandas*, *Quercus spp.*, *Careya arborea*, *Hardwickia binata*, *Litsaea spp.*, *Cinnamomum obtusifolium*, *Zanthoxylum rhetsa*, *Michelia chanpaca*, *M. utilisissima*, *Jatropha curcas*, *C. papaya*, *Plumaria spp.*, *Tamarindus indica*, *S. cumini*, *Ailanthus excelsa*, belonging to 21 families were reported with medicinal value against fever, indigestion, dysentery, asthma, wounds, intestinal ulcers, low lactation, dehydration, swelling, tuberculosis (TB), bleeding piles, cough, diabetes, syphilis, rheumatism, muscular pain, cardiac disease, constipation, malnutrition, headache, skin diseases, tooth ache, pimples, gonorrhea, jaundice, eye diseases, stomach pain, measles, urinary diseases and also for blood purification, appetizer, hair growth, snake bites, scorpion stings (Narayanawamy *et al.*, 1990; Yadav *et al.*, 1997; Naika *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2004; Srivastav *et al.*, 2007; Singhvi *et al.*, 2008).

INDUSTRIAL APPLICATION

The contents of alcohol, benzene, alpha, beta and gamma fibers, lignin, hemicelluloses like pentosan and galactan, nitrogen, crude proteins, metoxyl, ash content and lime pectinates of mulberry indicates its applications in variety of industries (Aruga, 1994). The bed refuse, litter and unused mulberry leaf/shoots are with good quantities of nitrogen, phosphorus, potash, enzymes and micronutrients like iron, manganese, zinc and copper (**Table-VI**) have application for vermicompost (Bari, 1990; Aruga, 1994; Das *et al.*, 1997; Pandey *et al.*, 2008; Setua and Setua, 2008). The digested and bleached bark of mulberry used to extract a soft and white fiber for the use in textile industries and in China and Europe the stem bark, young and small pruned branches are used in paper industries (Tewary and Rao, 1990). The branches of mulberry are of good fuel energy value with 4600 calories per kg of mulberry wood and 27941 kilo calories per hectare in addition of its value as seed material for new plantation. The heat potential of mulberry is much superior over other agricultural residues and tree species (**Table-VII**) indicating the scope of its exploitation as fuel wood market network (Chinnaswamy and Hariprasad, 1995, 1998; Ramesh *et al.*, 2003). The generation of one kg litter

from every ten kgs of mulberry leaf consumed by silkworms and its extractable chlorophyll's applications in making tooth paste, soaps, shampoo, creams indicate the commercial potential of by-products (Raju, 1996; Nair *et al.*, 1999). The chemical constituents of shoot, wood and bark (Table-VIII) were used for extracting adhesives, industrial chemicals, biodegradable plastics, polymers, plant growth hormones, paints, vinegar, pencil covers, chip boards, fibers, charcoal and high quality activated carbon. The phloem of the shoots is the source of fibers and the cotton like fibers so extracted are used as supplementary cotton in spinning and also the jute like fibers extracted were used in making ropes and nets. The pulp made out of unused mulberry material is of great use in paper industries and the bark of the mulberry is used in making artificial leather (Majumder, 1997; Ramesh *et al.*, 2003). The paper, fibre boards, card boards and wood adhesives extracted from the shoots of *M. alba* (mulberry) and *Terminalia tomentosa* (asan) plants are cheaper over existing ones, can be perfumed with flower petals, are eco friendly and bio degradable. The twigs, small branches are the resource material of handicrafts in making luggage and artistic/fancy bags and twigs of one hectare of mulberry can provide additional income of \$ 300 through basket industry. The chemicals like ethanol, acetone, butanol, citric acid, acetic acid, glutamic acid, nucleosides, vitamins, fatty acids and amino acids can be produced commercially by sericulture waste as basic material (Dandin and Ramesh, 1987; Tewary and Rao, 1990; Majumder, 1997; Iyengar, 1998; Ramesh *et al.*, 2003; Sarkar and Datta, 2006; Singhvi *et al.*, 2008). Mulberry waste is ideal substrate in bio-process through micro-organisms for extraction of industrial enzymes like protease, lipase, glycosidase, glucose isomerase, topoisomerase and invertase (Ramesh *et al.*, 2003).

Table VI. Composition of silkworm litter, vermicompost and farmyard manure (in % of fresh weight) (Chinnaswamy *et al.*, 2004; Singhal *et al.*, 2001)

*Tableau VI. Composition de la litière de ver à soie, du vermicompost et du fumier (en % de poids frais) (Chinnaswamy *et coll.*, 2004; Singhal *et coll.*, 2001)*

Component	Silkworm litter	Vermicompost	Farmyard manure
Composant	Litière de ver à soie		Fumier
Nitrogen (%) / Azote (%)	3.20-3.47	1.87-2.00	0.30-0.50
Phosphorus (%) / Phosphore (%)	0.93-0.96	0.60-0.9 0	0.20-0.40
Potassium (%)	1.50-1.80	1.00-1.50	0.300-0.6
Protein (%) / Protéines (%)	14.78	9.34	4.51
Crude fat (%) / Graisses brutes (%)	2.14	1.00	0.68
Crude fiber (%) / Fibres brutes (%)	19.70	4.43	7.52
Cu (ppm)	73.60	61.50	2.80
Fe (ppm)	1659	1217	Nil / Nul
Mn (ppm)	623.8	509.7	69.00
Zn (ppm)	94.9	84.60	14.50

Table VII. Heat potential and calorific values of different agricultural wastes and tree species in comparison with mulberry (Chinnaswamy and Hariprasad, 1998).*Tableau VII. Potentiel thermique et valeurs calorifiques de différents déchets agricoles et d'espèces d'arbres par comparaison au mûrier (Chinnaswamy et Hariprasad, 1998).*

Agricultural wastes	Calorific values (cal-l)	Common name of tree	Scientific name of tree	Calorific value (cal.g-1)
<i>Déchets agricoles</i>	<i>Valeur calorifique (cal-l)</i>	<i>Nom courant de l'arbre</i>	<i>Nom scientifique de l'arbre</i>	<i>Valeur calorifique (cal.g-1)</i>
Rice straw / Paille de riz	3000	Cutch / Catechu	<i>Acacia catechu</i>	5118
Wheat straw / Paille de blé	3800	Laurel / Laurier	<i>Terminalia tomentosa</i>	5083
Cotton sticks / Branches de coton	3300	Sal	<i>Shorea robusta</i>	5395
Maize stalks / Tiges de maïs	4700	Sal	<i>Stercupia urens</i>	5651
Bajra stalks/ Tiges de bajra	3850	Chir	<i>Pinus longifolia</i>	4948
Groundnut straw / Paille d'arachide	4200	Mulberry / Mûrier	<i>Morus alba</i>	4600
Castor stalks / Tiges de ricin	4767	Cedar / Cèdre	<i>Cedrus deodara</i>	5478
Mustard straw / Paille de moutarde	4034	Sissu / Sesham	<i>Dalbergia sisso</i>	5056
Gram straw / Paille de pois chiche	3950	Sandan	<i>Ougenia dalbergiodes</i>	5090
Masoor straw / Paille de masoor	3810	Teak / Teck	<i>Tectona grandis</i>	5468
Moong straw / Paille de moong	3820	Bilijali	<i>Acacia leucophloea</i>	4779
Coffee grounds / Marc de café	5000	Bahan Peuplier de l'Euphrate	<i>Populus euphratica</i>	4938

The extraction of bio-gas from silkworm litter and its use for cooking has wider potential in rural sericultural areas. The bio-fuels are also useful in industrial, transport or as starting materials for the chemical industries and the new design concepts for alcohol based engines for utilizing green petrol produced out of mulberry bio-mass needs exploration (Ramesh *et al.*, 2003). The studies confirming supplementation of nitrogen and phosphorus through bio-fertilizers in mulberry and multiplication of NFBs, PSMs and VAM fungi, nitrogen fixation and phosphate solubility by the mulberry root rhizosphere signify the prospect of mulberry wastes for bio-fertilizers (Ramesh *et al.*, 2003). Even seasonal growing of selective varieties of mulberry with high fruit yields with organized marketing is of bright future due to potential fruit values (Masilamani *et al.*, 2008). The Eri food plant, *M. utilisima* (tapioca) is fulfilling India's 25% requirement of starch with its yield of 10-15 tons of tubers per hectare and has wider industrial application; the other food plant *R. communis* (castor) has potential in oil, fertilizer and pesticide applications. Even the litter of Eri silkworm has got application

as fertilizer and pesticide due to its very high concentrations of uric acid (Sahay *et al.*, 1997). The gum extracted from non-mulberry food plants *Anogeissus latifolia* (dhaura), *Shorea robusta* (sal), *Terminalia arjuna* (arjun), *T. tomentosa* (asan), latex of *Ficus bengalensis* (wad), *Ficus religiosa* (peepal), *C. papaya* (papaya), *J. curcas* (jatropha) needs exploitation (Narayanaswamy *et al.*, 1990; Yadav *et al.*, 1997; Naika *et al.*, 2000; Shukla *et al.*, 2003; Singh, 2008; Singhvi *et al.*, 2008). The bark and fruits of *T. arjuna* (arjun) and *T. tomentosa* (asan) trees are rich in tannins and have application in leather industry (Singhvi *et al.*, 2008).

Table VIII. Chemical composition of mulberry whole shoot, wood and bark (in % of dry weight) (Aruga, 1994; Majumder, 1997)

Tableau VIII. Composition chimique du rameau entier, du bois et de l'écorce de mûrier (en % de poids sec) (Aruga, 1994 ; Majumder, 1997)

Component	Whole shoot	Wood	Bark
Composant	Rameau entier	Bois	Ecorce
Alcohol-benzene extract / <i>Extrait d'alcool benzène</i>	05.78	03.57	07.30
1% NaOH soluble products <i>Produits solubles dans du NaOH à 1 %</i>	33.25	25.24	37.52
Hot water soluble substances <i>Substances solubles dans l'eau chaude</i>	12.97	05.68	11.60
Cold water soluble substances <i>Substances solubles dans l'eau froide</i>	09.11	04.30	12.57
Total fibre content / <i>Teneur totale en fibres</i>	50.49	60.21	52.99
Nitrogen / <i>Azote</i>	0.820	0.780	0.950
Crude protein / <i>Protéines brutes</i>	05.09	03.00	05.95
Ash content / <i>Teneur en cendres</i>	02.01	01.11	05.00

COSMETIC APPLICATION

The moisturizing capacity of mulberry leaf juice, keeps skin smooth and healthy (Shivahumar *et al.*, 1995; Singhal *et al.*, 2001) and the chlorophyll of mulberry silk worm litter, polyphenols, polysaccharides like pectin and glucose of mulberry shoots form a viscose material making the skin and hair soft (Majumder, 1997). A glass of mulberry fruit wine a day creates slim and graceful bodylines and enhances general health (Sarkar and Datta, 2006; Sinha, 2008). The studies by pharmacology department of Mahidol University, Thailand revealed that the extracts of mulberry hybrid developed from *M. alba* and *M. rotundiloba* proved to be a source of a new Thai whitening

hybrid developed from *M. alba* and *M. rotundiloba* proved to be a source of a new Thai whitening agent due to its anti-tyrosinase activity. The studies from Kyunghee University, Seoul, Korea suggests that Mulberroside-F isolated from mulberry leaves can be used as a skin whitening agent. Another study from France showed that resveratrol could be used as additive with *M. alba* extract in whitening cosmetics (Iyengar, 2008b). In China, the mulberry fruit is used for cosmetic purposes like treating for skin, eye and blood nourishing, skin paleness, hair graying and growth, tonifying the muscles and anti-aging due to its richness in antioxidants (Sharma and Sinha, 2000; Kumaresan *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2008). The oil extracted from the flowers of non-mulberry food plant, *Tectona grandis* (sagun) and kernel of *T. bellerica* (devil abode) are used in cosmetics as hair growth promoter and hair conditioner (Yadav *et al.*, 1997; Naika *et al.*, 2000).

TIMBER APPLICATION

The mulberry timber has got wider valuable applications in making sports goods, agricultural implements, furniture and household articles. The wood has elasticity, flexibility and can bent using steam for making hockey sticks, tennis, badminton and squash rackets, cricket bats and stumps, picker's arms, bobbins, handles for different tools and about 80 small scale industries are engaged in this work at Meerut (UP) and Jallunder (Punjab), India. In rural areas the mulberry wood is preferred to make spokes, poles, shafts and bent parts of carriage and carts. The wood is suitable for making ply wood, paneling, carving and turnery, boxes, toys and also in boat and ship making due to its strength, durability, elasticity, smoothness and defect freeness (Tewary and Rao, 1990; Singhal *et al.*, 2001; Suryanarayana, 2002; Srivastav *et al.*, 2007). The wood of non-mulberry plants like asan, arjun (*Terminalia spp.*) and sal (*S. robusta*) is also used for making agriculture tools, furniture, carts, ceiling boards, match boxes, splints, rice pounders, cabinets, parcels, fire proof buildings and the wood of asan has been popularly known as laurel in trade (Siddiqui, 1988; Majhi *et al.*, 1991; Singhvi *et al.*, 2008).

DISEASE AND PEST CONTROL APPLICATION

The wood ash of *T. arjuna* (arjun) and *T. tomentosa* (asan) plants were found effective against viruses up to 85% in tasar silkworm due to its high and stable alkaline activity with pH value 10.5-11.5. The ash was found more effective than lime powder in addition to its cheaper rate and eco friendly property (Singh *et al.*, 2004). The wood ash proved its efficacy as anti viral against cytoplasmic polyhedrosis virus of *Antheraea mylitta* D (Singh *et al.*, 2006). The mulberry wood vinegar checks the germination and growth of fungi, *Beauveria bassiana* and can be applied to control muscardine disease in silkworm (Iyengar, 1998). The wood ash of mulberry was reported effective against nuclear polyhedrosis, flacherie and denosonucleosis up to 80-90% due to its stable alkaline effect (Kumar *et al.*, 2000; Singhal *et al.*, 2001). The leaf and seed extracts of non mulberry food plant *C. papaya* (Papaya) have insecticidal properties (Naika *et al.*, 2000). The litter powder of Eri silkworm is used as effective insecticide in paddy fields due to its rich content of uric acid and the oil and cake of castor plant (*R. communis*) have pesticide value (Sahay *et al.*, 1997). The mulberry latex can be a good target for pesticides because of its toxic nature and defensive mechanism against herbivory (Iyengar, 2007a) and seed cake and oil of *J. curcas*, the secondary food plant of Eri silkworm has got insecticidal application against *Hyblaea pueria*, *Eutectona machaeralis*, *Plecoptera reflexa* and *Pyrausta bambucivora*, fungicidal against *Schizophyllum commune* and nematocidal against *Meloidogyne incognita* (Nataraj *et al.*, 2008; Singh, 2008).

OIL EXTRACTION APPLICATION

The mulberry, *M. alba* can yield around one kg of seed per annum per plant and its 32% oil with rich source of oleic acid made useful in soap, cosmetics, body massage oils, paints and poultry, fish and cattle feed preparations (Srivastav et al., 2007; Yeasmin et al., 2007). The *J. curcas*, food plant of Eri silkworm can yield 1-5 tons of seed per hectare with oil percentage of 30-40%; it can give 1 liter of non edible oil from 3 kgs of seed and it was reported effective as insecticide (Solanki, 2005; Rajasekharagowda et al., 2006; Nataraj et al., 2008). The jatropha oil of *J. curcas* plant, as bio diesel found effective with its calorific value with just 16.6% less than that of diesel indicating its future prospective alternating diesel (Nevase et al., 2008; Singh, 2008). The oil from non mulberry plants like *Celastrus paniculata* (dhivar), *R. communis* (erandi), *Zanthoxylum retsa* (bajramani), *C. monosperma* (bhemitoti), *Tectona grandis* (sagun), *Litsaea spp.* (meda trees), *Cinnamomum obtusifolium* (camphora), *T. chebula* (myrobalan) are of commercial value and needs exploration and exploitation (Narayanaswamy et al., 1990; Yadav et al., 1997; Naika et al., 2000; Singhvi et al., 2008). The essential oils of Muga food plants like *Magnolia pterocarpa*, *Cinnamomum bejolghota* and *Litsea cubeba* with high content of eugenyl methyl ether/ linalool and pleasant smell are regarded as defensive substances as repellents, toxins and chemically not suitable for all insects, indicates their probable use in developing species specific herbal insecticides. Further, the relationship of these essential oils of food plants with the color and quality of silk produced by *Antheraea assama* indicate its importance towards improving the silk grades (Chowdhury et al., 1998; Chowdhury and Laclereq, 1998; Chowdhury, 2002).

FABRIC DYEING APPLICATION

The bark of *T. arjuna* is reported as suitable base for extraction of oxalic acid and the bark and fruits of *T. arjuna* and *T. tomentosa* are tannin rich and having brighter potential in dyeing industry (Yadav et al., 1997; Singhvi et al., 2008). The extracts of tannin from mulberry wood are considered for tanning and coloring purpose (Dandin and Ramesh, 1987; Tewary and Rao, 1990; Singhal et al., 2001) and the mulberry fruits can produce purple and red colors and have been used in fabric dyeing and traditionally applied to dye wool (Sinha, 2008).

SOCIAL FORESTRY APPLICATION

Planting tasar food plants in fallow/barren lands will strengthen the bulk of green area, acts as harmonious linkage between tribal welfare and forest conservation with tasar production. It further adds conserving soil fertility, water recycling, oxygen production, controlling of pollution, wild life protection and ecological balance (Siddiqui, 1988). The culture of tasar silkworms generates litter to recycle food plant leaf as nutrient within the developed micro-environment as the activity is the integral part of the ecosystem to maintain its balance (Kakati, 2006; Rao, 2007). The mulberry grows faster irrespective of soils and climate with lots of economic values as fodder, fuel, medicines and timber has got potential under agro/social forestry (Singhvi and Sinha, 1991; Singh and Ghosh, 1992). The non mulberry food plants like *J. curcas* has got wider scope under social forestry due to its application in bio diesel as the world is moving ahead with eco friendly transport procedures and packages.

ORNAMENTAL APPLICATION

In North-Western parts of India, the mulberry has got popular value as shade, avenue and ornamental tree. Many of the mulberry varieties are of ornamental value and one of the Russian

variety with drooping branches forms the best weeping lawn tree, which is popular in America known as 'TEAS' weeping mulberry. Another variety *venulosa* of *M. alba* is one of the best ornamental plants with attractive lobed leaves (Singhal et al, 2001; Srivastav et al., 2007).

CONCLUSION

Sericulture industry should look at the consumption of food plants in total for different marketable valuables of modern society's application, which is an obligation and need for its all-round development. Though, the traditional practices construct only food to silkworms, the new approaches paving paths toward wider potential functional derivatives from food plants. Timely exploration of by-product applications in bio-process, fermentation, micro-biology, phyto-technology, bio-technology, genetic engineering, drug targeting and delivery approaches etc., found apt in crafting raw and waste to artifact and value. The inclination rightly suits to silkworm food plant wastes for the translation in to human food, animal feed, medicines, restoratives, cosmetics, timber, pesticides, oils, dyes, social forestry, ornamentals and many related industries considered forthcoming for employment and revenue creation. There is an increasing demand of processed and value added products with an idea of safeguarding and economic utilization of processing wastes. Also the processed products impart extension of storage life, better handling, reduces transportation spoilage, suitable for domestic as well as international market and export – mostly towards value addition. This move, however, requires more of service avenues in making growers utilizing food plant resources in full and adding income value. At this juncture, the need perhaps is the intervention of all concerned to redesign technologies in utilizing the available resources linked with supporting sale system to encourage entrepreneur to come out with more products of commercial choice and value. The realization of silkworm food plants apply dimension and application of suitable technology is meaningful and certainly the resource will be of very sound commercial prospective.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is thankful to the Director, Central Tasar Research & Training Institute, Ranchi for providing facilities while making this review article.

REFERENCES

- ABSAR N., ADUS SATTER M., AZIZ SARKER A. (1995) Purification and characterization of six proteins from the leaves of BM-3 mulberry variety. *Sericologia*, 35(4): 725-732.
- ARUGA H. (1994) Principles of Sericulture, I. (ed.), pp: 358-362, Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, Bombay, Calcutta, India.
- BARAH A., MECH D., CHAKRAVORTHY R. (2007) Integrated technology intervention : A successful approach in Eri culture. *Sericologia*, 47(2): 231-237.
- BARI M.A. (1990) The self supporting mulberry Dike-fish pond ecosystem. *Indian Silk*, 28(10): 22-23.
- BARMAN K., RAI S.N., SANAI N.A. (2005) Potential of tamarind seed as an animal feed. *Indian farming*, 55(8): 2.
- BOSE P.C., (1987) Mulberry is the medicine. *Indian Silk*, 26: 53-54.
- BOSE P.C., BOSE G. (1990) Natural resistance of mulberry plants to pests – The role of the allelic chemicals. *Indian Silk*, 28(11): 44-45.
- CHINNASWAMY K.P., HARIPRASAD K.B. (1995) Fuel energy potentiality of Mulberry. *Indian Silk*, 34(4):15-18.
- CHINNASWAMY K.P., HARIPRASAD K.B. (1998) Utilization of mulberry crop residue as fuel wood. *Indian Silk*, 37(1): 17-18.

- CHINNASWAMY K.P., BHARATHI V.P., JAGADISH N., SUNDARRAJ S. (2004) Use dimension of silkworm rearing waste in irrigated seri-ecosystem-innovative approaches for value addition. Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore, India.
- CHINNASWAMY K.P., DORESWAMY C., DEVAIAH M.C., VENKATESHA M. (1993) Pharmaceutical value of mulberry. *Indian Silk*, 31(11): 47-48.
- CHOWDHURY S.N. (2002) Effect of essential oils of *Litsea cubeba* (PERS.) on rearing performance of muga silkworm (*Antheraea assama*) and silk quality – A new report. *Sericologia*, 42(4): 501-507.
- CHOWDHURY S.N., LECLEREQ P.A. (1998) Essential oil of *Mangolia plerocarpa* (ROXB.) A new report from North East India. *Sericologia*, 38(4): 705-708.
- CHOWDHURY S.N., AHMED R.Z., BARTHEL LECLEREQ A. (1998) Essential oil composition of *Cinnamomum bejolghota* (BUCH-HAM) Sweet – A secondary Muga (*Antheraea assama* W/w) food plant from Assam, India. *Sericologia*, 38(3): 473-478.
- DANDIN S.B. (2005) Sericulture in Thailand. *Indian Silk*, 43(10): 10-13.
- DANDIN S.B., RAMESH S.R. (1987) A kalpavruksha called Mulberry. *Indian Silk*, 26(6): 49-53.
- DAS P.K., BHOGESHA K., SUNDARESWARAN P., MADHAVA RAO Y.R., SHARMA D.D. (1997) Vermiculture : Scope and potentiality in sericulture. *Indian Silk*, 36(2): 23-26.
- DILEEPKUMAR., DAS R.C. (2000) Changing trends in the world silk production scenario. *Indian Silk*, 39(1): 21-24.
- DWIVEDI N.K. (1988) Importance of white mulberry as a fodder tree. *Indian Silk*, 27(6): 18-20.
- HAN S.M., SUK Y.S., BAEK H.J., PARK H.R., HAN M.S. (2002) Effects of silkworm extract on streptozotocin – induced diabetic rats. *Int. J. Indust. Entomol.*, 5: 201-204.
- IYENGAR M.N.S. (1998) Use of wood vinegar to control muscardine disease of silkworm. *Indian Silk*, 37(5): 30.
- IYENGAR M.N.S. (2007a) Mulberry leaves are toxic. *Indian Silk*, 45(9): 29.
- IYENGAR M.N.S. (2007b) Mulberry leaf – A cure for many serious diseases. *Indian Silk*, 46(3): 29.
- IYENGAR M.N.S. (2008a) Mulberry as animal forage. *Indian Silk*, 46(10): 25.
- IYENGAR M.N.S. (2008b) Mulberry induces fairness. *Indian Silk*, 47(4): 13.
- KAKATI L.N. (2006) Vanya sericulture in Nagaland – Problems and prospects. *Indian Silk*, 45(3): 18-22.
- KUMAR V., NATARAJU B., DATTAR K. (2000) Potential of wood ash from mulberry and coconut as disinfectant for sericulture. *Indian Silk*, 39: 11.
- KUMARESAN P., TIKADER A., KAMBLE C.K. (2008) Mulberry fruit and its medicinal values. *Indian Silk*, 46(11): 10-11 & 13.
- MAJHI S.K., SINHA U.S.P., THANGAVELU K. (1991) Use of by-products of non-mulberry sericulture and silk industry. *Indian Silk*, 30(3): 13-14.
- MAJUMDER S.K. (1997) Scope for new commercial products from sericulture, *Indian Silk*, 35 (12): 13-18.
- MANDAL P.K. (1991) Sericulture wastes' utilization in China. *Indian Silk*, 30(7): 32.
- MASILAMANI S., QADRI S.M.H., DANDIN S.B. (2008) Mulberry fruits A potential value – addition enterprise. *Indian Silk*, 46(11): 12-13.
- NAIKA R., DORESWAMY C., VENKATESH GOWDA T.N. (2000) Medicinal values of non-mulberry host plants. *Indian Silk*, 39(3): 15-17.
- NAIR K.S., KANIKA TRIVEDI., CHINYA P.K. (1999) Sericulture waste management systems – availability of waste during rearing and its uses. *Indian Farming*, 49(4): 32-33 & 35.
- NARAYANASWAMY K.C., BHAT G.G., REDDY D.N.R., PRABHAKARA M.K. (1990) Medicinal value of foodplants of non-mulberry silkworms. *Indian Silk*, 29(5): 23-25.
- NATARAJ S.K., KIRTI NAIK., GANGADHARAPPA P.M. (2008) Biodiesel in India. *Rashtriya Krishi*, 3(1): 14-15.
- NEVASE S.S., SHINDE K.J., KADU B.D. (2008) Bio diesel production from jatropha oil. *Green Farming*, 1(10&11): 102-104.

- OMORI M., YANO T., OKAMOTO J., TSUSHIDA T. (1987) Effect of anaerobically treated tea (Gabaron tea) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Nippon Negei Kagaku Kaishi*, 61: 1449-1451.
- PANDEY R.K., SUMBLI S.N. (1997) Chestnut for Oak tasar silkworm. *Indian Silk*, 36(7&8): 13-15.
- PANDEY R.K., KHAN M.A., BINDROO B.B., DHAR A., CHOUHAN S.S. (2008) Vermi – composting of Seri – waste by *Eisenia foetida*. *Indian Silk*, 47(3): 6-8.
- PRAKASH K.S., PRASAD V.R.N., RAVIKISHORE C.V.N., RAMARAO M., KRISHNARAO J.V., KHANNA R.P. (2003) Eri culture – an additional source of income for tapioca farmers. *Indian Silk*, 41(12): 29-30.
- RADHAKRISHNA P.G., SEKHARAPPA B.M., MARIBASHETTY V.G. (2000) Silk and milk : An economic package for rural upliftment. *Indian Silk*, 39(5): 11-12 & 18.
- RAJASHEKHARAGOWDA., PATIL R., ANKAD G., KUSUGAL S. (2006) *Jatropha curcas* : An alternate host plant of Eri silkworm. *Indian Silk*, 45(3): 17.
- RAJU CH.S. (1996) Utilization of sericultural by-products – A Chinese example, *Indian Silk*, 35 (6&7): 19-20.
- RAMESH C., IBRAHEEMBASHA K., LAKSHMI H., SESHAGIRI S.V., PHANIKIRANKUMAR K. (2003) Mulberry-an ideal resource for biotechnological products. *Indian Silk*, 41(11): 5-9.
- RAO K.M. (2007) Tasar culture and forest policy constraints and guidelines. *Indian Silk*, 45(10): 14-18.
- RAY I. (1990) Defy diabetes with mulberry. *Indian Silk*, 28(10): 34-35.
- SAHAY A., SINGH B.K., DEORI S., MUKHERJEE P.K. (1997) Ericulture: Nature's gift. *Indian Silk*, 36 (5): 25-28.
- SARATCHANDRA B. (2003) A thought for development of Eri culture in India. *Indian Silk*, 41(12): 25-28.
- SARKAR A., DATTA R.N. (2006) Adhesive from waste mulberry stem. *Indian Silk*, 45(5): 09.
- SETUA G.C., SETUA M. (2008) Seri farm waste compost – an easy and quick method of preparation for efficient use and alternative source of chemical fertilizer. *Indian Farming*, 57(10): 41-44.
- SHARMA K.P., SINHA R.K. (2000) Korean sericulture – Adding new dimensions. *Indian Silk*, 39(7): 24-26.
- SHETTY K.K., MOHAN B.N. (2003) Mulberry green tea for good health. *Indian Silk*, 42(4): 27-28.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., TAKEDA N. (1992) Aromatic amino acids in the leaves of *Morus alba* and their medical value. *Sericologia*, 32(4): 633-636.
- SHIVAKUMAR G.R., ANANTHARAMAN K.V., MAGADAM S.B., DATTA R.K. (1995) Medicinal values of mulberry. *Indian Silk*, 34(7): 15-16.
- SHUKLA S., SAHU R.K., PATEL M. (2003) Experience on Eri silk from the grassroots. *Indian Silk*, 41(12): 31-32.
- SIDDQUI A.A. (1988) Tasarculture and its role in community development. *Indian Silk*, 26(10): 35-37.
- SINGH N. (2008) Establishment of *Jatropha curcas* L. in degraded lands: A potential source of bio-chemicals. *Green Farming*, 1(8): 45-47.
- SINGH K.P., GHOSH P.L. (1992) Mulberry cultivation under agro forestry and land management. *Indian Silk*, 31(2): 16-18 & 21.
- SINGH R., KALPANA G.V., YAMAMOTO T. (2002) Modern trends in Japanese sericulture research. *Indian Silk*, 40(12): 17-20.
- SINGH G.P., ROY D.K., SAHAY A., SURYANARAYANA N. (2006) Efficacy of wood ash as an antiviral agent against cytoplasmic polyhedrosis virus of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. *Int. J. Indust. Entomology*, 13(2): 97-101.
- SINGH G.P., SAHAY A., ROY D.K., SAHAY D.N., ROY G.C., SINHA B.R.R.Pd. (2004) Terminalia wood ash as an alternative disinfectant in tasarculture. *Indian Silk*, 43(2): 15-16.
- SINGHAL B.K., DHAR A., SHARMA A., QADRI S.M.H., AHSAN M.M. (2001) Sericultural by-products for various valuable commercial products as emerging bio science industry. *Sericologia*, 41(3): 369-391.

- SINGHVI N.R., SINHA A.K. (1991) Mulberry: The kalpavruksha of the twenty first century. *Indian Silk*, 30(2): 24-26.
- SINGHVI N.R., KUSHWAHA R.V., KATIYAR R.S., SURYANARAYANA N. (2008) Arjun and Asan trees hold promise for social forestry. *Rashtriya Krishi*, 3(1): 85-86.
- SINHA R.K. (2008) Mulberry fruits: A culture of delectable dessert. *Indian Silk*, 46(11): 6-9.
- SOLANKI K.R. (2005) *Jatropha curcas* (Ratanjyol)(-): An important alternative and renewable source of bio diesel. *Indian Farming*, 54(11): 19-22.
- SRIVASTAV P.K., CHAKRABARTHI S., KHAN M.A. (2007) Integration of sericulture with allied industries in India. *Sericologia*, 47(2): 117-129.
- SRIVASTAVA S., KAPOOR R., SRIVASTAVA R.P. (1997) Delicious delicacies from nutritious mulberry. *Indian Silk*, 35(11): 39-40.
- SURYANARAYANA N. (2002) Mulberry and its therapeutic values. *Indian Silk*, 41(7): 11-13.
- TEWARY P.K., RAO G.S. (1990) Mulberry by-products and their utilization. *Indian Silk*, 29(3): 43-44.
- TRIPATHI M.K., SHARMA A.K., BABULAL., BAKUNI B.S., KHATRI R.K. (2008) Antioxidants in mulberry. *Indian Silk*, 46(11): 14.
- TSUSHIDA T., MURAI T., OMORI M., OKAMOTO J. (1987) Production of new type tea containing high level of gamma-amino butyric acid. *Nippon Negei Kagaku Kaishi*, 61: 817-822.
- YADAV G.S., REDDY K.J., MURGOD S.B., ROY G.C., SINHA B.R.R.Pd. (1997) Medicinal Tasar flora of Bhandara. *Indian Silk*, 36(4): 34-37.
- YEASMIN T., RAZA S., SARKAR S.K., ABSAR N. (2007) Physico chemical analysis of mulberry (*Morus alba*) seed oil. *Bangl. J. Seric*, 1: 47-51.

APPLICATIONS DES PLANTES HOTES DU VER A SOIE DANS LES CONDITIONS INDIENNES - OPTIMISATION DE LEUR UTILITE ET DE LEUR VALEUR AJOUTEE

R. MANOHAR REDDY

Central Tasar Research and Training Insitute, Central Silk Board, P. O. Piska nagri,
Ranchi – 835 303, Inde. E-mail : dr.manohar1959@rediffmail.com

Il est impératif de comprendre l'utilité réelle des plantes hôtes du ver à soie pour augmenter les profits. Les parties et les formes des plantes hôtes du ver à soie ont une valeur culinaire et sont adaptées à l'alimentation humaine sous forme de snacks, de parata, de pakoda, de thé, de confitures, de gelée, de boissons sucrées et de vin et pour l'alimentation du bétail, de la volaille, des poissons, des lapins, des porcins et des moutons. Les feuilles, les fruits, l'écorce du tronc et les racines ont des applications dans les industries du savon, des cosmétiques, des engrais, des gaz organiques, des combustibles et du papier et on utilise leur décoction, leurs alcaloïdes, leurs protéines, leurs acides aminés dans les médicaments anti-inflammatoires, antibactériens, antiviraux, antifongiques, contre le diabète et la tension artérielle et ils sont riches en vitamines A, B et C. Les déchets du ver à soie et de litière sont des substrats efficaces comme engrais organiques, vermicompost, gaz organiques, pour leur chlorophylle, leur carotène, leur phytol, leur tricontinol, leur pectine et pour la production de champignons. Les enzymes des déchets des plantes hôtes ont des applications dans les produits pharmaceutiques, les détergents, l'industrie du cuir, la transformation de l'amidon, la transformation des textiles, les biodétecteurs, les biotransformations et les plastiques biodégradables. On utilise les tiges pour les paniers, le papier, les jouets, les articles de sport, le charbon de bois et le tronc a une valeur immense comme bois pour réaliser des meubles. L'utilisation des extraits de pousses comme adhésif, des branches comme combustible, de l'écorce comme cuir artificiel, des cendres de bois comme désinfectants, du latex comme pommade pour la peau, des fruits comme colorant textile, des racines comme médicament prometteur contre le SIDA indique leurs applications potentielles. La prise de conscience concernant les applications des déchets et la gestion des sous-produits pour générer des revenus et des emplois diminueront aussi les coûts de production et assureront des revenus supplémentaires, qui contribueront à valoriser la sériciculture.

INTRODUCTION

La sériciculture est une industrie artisanale importante à base agricole dans les pays séricicoles traditionnels du monde entier, qui implique les activités en chaîne de culture des plantes hôtes, d'élevage, de grainage des vers à soie, et du dévidage de la soie, qui donnent des quantités importantes de déchets comme sous-produits. Il est nécessaire de réfléchir à l'utilité de la part considérable qui est inutilisée dans les plantes hôtes, tels que les déchets de feuilles, de rameaux, les détritux et la plante entière hors des saisons d'élevage, pour en tirer partie afin de créer de la valeur ajoutée. Il est temps de rationaliser la consommation des plantes hôtes dans leur ensemble pour générer les meilleurs revenus possibles, pour faire baisser les coûts de production et pour une meilleure durabilité de la sériciculture pour la population rurale. L'Inde est le seul pays qui produit toutes les variétés de soie connues sur le plan commercial telles que celles de *Bombyx*, de tasar, d'eri et de muga et dispose d'une quantité massive de parties non utilisées des plantes hôtes et de leurs sous-produits. A l'heure actuelle, la situation de précipitations irrégulières, de climat erratique, de coûts élevés de main d'œuvre-d'intrants et de faibles taux de coconnage force les sériciculteurs à chercher des revenus

supplémentaires, en utilisant complètement les matières premières. Compte tenu de la compétition agressive due à la mondialisation, cela est obligatoire pour les parties prenantes pour rentabiliser les profits tirés de cette activité. La situation oblige la communauté séricicole mondiale à la prise de conscience et à la prise de nouvelles dispositions pour s'orienter vers la durabilité, grâce à la diversification et à l'efficacité de la gestion, pour augmenter les gains. L'approche intégrée des scientifiques, des technocrates, des bureaucrates, des instituts professionnels, des spécialistes, des organisations non gouvernementales, des industriels, des entrepreneurs, des exportateurs, des commerçants, des stylistes de mode, des cadres et des représentants de la sériciculture et de l'industrie de la soie est importante pour exploiter, découvrir et accroître l'expertise adaptée et pour explorer l'utilisation complète des matières premières afin d'augmenter les profits et le chiffre d'affaire. Cette revue met l'accent sur l'exploitation complète de la valeur des plantes hôtes du ver à soie, de la racine au fruit pour obtenir les revenus les plus élevés possibles, de manière à ce que la sériciculture soit viable et attirante sur le plan commercial.

SITUATION ACTUELLE EN INDE

La production de 16 525, 1485, 350 et 115 t de soie grège mûrier, eri, tasar et muga et la consommation proportionnelle de respectivement 191 893 ; 59 589 ; 111 684 ; 16 380 hectares de plantes hôtes par l'Inde en 2006-07 indique la quantité colossale de déchets de plantes hôtes disponibles comme matières premières pour des produits dérivés. Les éleveurs ne pensent pas souvent à la valeur des déchets, sauf pour les utiliser uniquement comme alimentation pour le bétail, comme fumier, comme fruits comestibles, comme bois de chauffe, pour leur bois, ce qui assure une utilisation inefficace de ressources et entraîne également une pollution environnementale. Les principales raisons de la non utilisation des sous-produits viennent du fait que l'on considère seulement les plantes hôtes séricicoles comme alimentation du ver à soie et du manque de connaissances sur lesquelles s'appuyer, de technologies pratiques, d'entrepreneurs dynamiques et, de manière plus importante, de débouchés immédiats pour les transactions. En raison de leur origine rurale et de leur faible niveau d'études, les sériciculteurs pensent seulement à leur destruction immédiate, parce qu'ils ont d'autres tâches en cours et qu'ils ignorent le véritable potentiel des plantes hôtes inexploitées. Cependant, la mutation exemplaire des technologies de production séricicole en Corée du sud à la fin des années quatre vingt dix, de la production de soie traditionnelle à des produits dérivés diversifiés à haute valeur ajoutée (Sharma et Sinha, 2000) a été révolutionnaire, parce qu'un tel changement ne s'était jamais produit dans les 3000 ans d'histoire de la sériciculture mondiale. Dernièrement, les profits non durables de la sériciculture ont conduit les acteurs indiens et d'autres pays séricicoles à étudier la génération de revenus importants, en convertissant les matières premières / les déchets des plantes hôtes en produits dérivés appréciés, ceci permettant une interaction judicieuse avec la nature.

APPLICATIONS DES PLANTES HOTES DU VER A SOIE

Applications dans l'alimentation humaine :

Les feuilles de mûrier sont riches en protéines, en hydrates de carbone, en sucres, en amidon, en fibres brutes, en acides aminés, en vitamines A, B et C, en minéraux Ca, K, Na, Mg, Fe et en Zn, nécessaires à la nutrition de l'homme. Cette grande variété témoigne de la valeur nutritive de la feuille (Tableau I), qui explique l'offre de jus de feuilles de mûrier en matière d'hospitalité en Chine. En raison du très faible pourcentage de caféine (0,01 %) de la feuille de mûrier, l'Institut de Recherche sur le Mûrier en Thaïlande a mis au point du thé de mûrier et commencé à le vendre sous la marque « Ranowghana » et les feuilles de mûrier fraîches sont utilisées dans les plats du Nord-est de la Thaïlande (Shetty et Mohan, 2003). L'entreprise M/ S Chul Thai Agro Industries en Thaïlande utilisait la promotion de produits dérivés du mûrier, tels que le thé, le vin, la confiture, les glaces, etc.. pour

augmenter les revenus des fermiers (Aruga, 1994 ; Dandin, 2005). Les aliments indiens tels que « parata », « pakoda », « saag » « dhokla », des produits à la vapeur préparés à partir de feuilles de mûrier sont aussi savoureux et aussi nutritifs que d'autres légumes (Tableau II) et les Indiens en préfèrent quelques uns aux aliments à base d'épinards et d'amarante (Tewary et Rao, 1990 ; Srivastava et coll., 1997 ; Suryanarayana, 2002). Le thé Gabaron préparé à partir de feuilles de mûrier en utilisant de l'azote gazeux (Tsushida et coll., 1987), le thé de mûrier fabriqué par Hoshina Co. Ltd, Saitama, Japon, à savoir le KUWACHA-(R), diminue la tension artérielle (Omori et coll., 1987) et du fait de sa teneur en acide aminé aromatique et en acide gamma amino butyrique (GAMA) a une valeur nutritive (Shimizu et coll., 1992a). Le thé de feuilles de mûrier est commercialisé comme une boisson saine au Japon, en Chine et en Thaïlande et on a aussi extrait l'acide caféique, les acides B-hydroxyanthraniliques utilisés dans les préparations alimentaires et pâtisseries (Ramesh et coll., 2003).

Même en Inde, le *Central Sericultural Research and Training Institute*, du *Central Silk Board*, à Mysore est autorisé à produire le thé de mûrier « SPOORTHI » (Iyengar, 2007b). Le fructose du fruit et la chlorophylle ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5RCH_3$) extraits des déchets du ver à soie sont utilisés dans l'alimentation et comme colorants alimentaires (Mandal, 1991). La cupro-chlorophylline de sodium et la pectine extraits des déchets du ver à soie sont utilisés pour faire des bonbons, de la gelée, de la confiture, du vin, des jus de fruit concentrés, des conserves de fruits et de légumes ainsi que comme additif alimentaire (Raju, 1996 ; Srivastav et coll., 2007). En Grèce, on fait fermenter les fruits pour obtenir une boisson alcoolisée et on les utilise dans la plupart des pays froids pour préparer un vin et une bière spéciales (Shivakumar et coll., 1995). En plus de l'utilisation des fruits du mûrier en Inde pour faire de la confiture, de la gelée et du sorbet, un vin pour femme très populaire à base de fruits fermentés est également préparé en Europe (Singhal et coll., 2001). Les fruits sont riches en nutriments (Tableau III) et utiles pour la transformation en glaces, en confitures, en gelées, en tourtes, en condiments, en tartes, en gâteaux, on peut les sucrer et les broyer pour les utiliser comme sauce, les mélanger avec des poires, des pommes et les produits transformés à partir des fruits du mûrier sont commercialisés au Japon, en Corée et en Chine (Mandal, 1991 ; Singh et Ghosh, 1992 ; Chinnaswamy et coll., 1993 ; 2004 ; Dileepkumar et Das, 2000 ; Singh et coll., 2002 ; Barah et coll. ; 2007 ; Sinha, 2008). Un hectare de champs de mûrier peut donner suffisamment de fruits pour produire 15 tonnes de boissons à base de mûrier, à la teneur élevée en hydrates de carbone, avec un goût prononcé et le riche parfum du fruit du mûrier, qui rend son jus très populaire en Chine, au Japon et en Corée. Les anthocyanines comme la 3-glucoside cyanidine, la 3-rutinoside cyanidine sont des colorants alimentaires naturels rouge / violet du fruit, qui sont utilisés comme agents colorants et exhausteurs de goût (Kumaresan, et coll., 2008). Le rendement de 500-625 kg par hectare, la teneur en jus de 30 à 60 %, sa valeur acceptable comme colorant alimentaire et la demande en Chine, au Japon et en Corée indique un potentiel à valeur ajoutée de la culture du fruit de mûrier (Masilamani et coll., 2008). On consomme le tubercule de la plante hôte eri, *Manihot utilissima* (tapioca) partout en tant que délicieux snacks en raison de sa teneur riche en hydrates de carbone, en amidon et en glucose. Les plantes hôtes non-mûrier *Zizyphus jujuba* (ber), *Carica papaya* (papaye), *Syztygium cumini* (jamun) et *Tamarindus indica* (tamarinier) donnent des fruits comestibles acides et astringents, savoureux, au goût agréable et ont une valeur commerciale au potentiel très élevé (Narayanaswamy et coll., 1990 ; Sahya et coll. ; 1997 ; Naika et coll., 2000 ; Prakash et coll., 2003 ; Saratchandra, 2003). La plante hôte du tasar du chêne, *Castanea sativa* (le châtaignier), cultivée dans les vergers de la vallée du Cachemire, dans la vallée de Manali (Himachal Pradesh) et de Doon (Uttar Pradesh) donne des fruits protéinés importants sur le plan commercial (Pandey et Sumbli, 1997).

Applications comme alimentation pour les animaux :

On peut utiliser les feuilles de mûrier comme nourriture pour les lapins, les moutons, le bétail, les buffles et on a remarqué moins d'accumulation de graisses et d'eau dans les muscles chez les

lapins, ce qui permet un meilleur gain de poids et une meilleure croissance de la fourrure (Aruga, 1994). L'alimentation des moutons de montagne sur des feuilles de mûrier augmente leur rendement en lait et sa concentration et son goût (Aruga, 1994). Les déchets du ver à soie ont une valeur nutritive élevée par rapport à l'herbe sauvage, au son de blé et à la paille de riz (Tableau IV) et on peut les conserver comme ensilage pour nourrir le bétail, lors du manque de fourrage (Aruga, 1994).

En raison de sa valeur nutritive par rapport aux autres fourrages réguliers (Tableau V) et de sa productivité élevée, on cultive exclusivement *Morus serrata* à des fins fourragères dans la région vallonnée de Kumaon, UP, en Inde. On nourrit les vaches, les moutons, les cochons, les buffles, les lapins et la volaille avec les feuilles non utilisées, les déchets de litière, les détritiques des élevages de ver à soie du mûrier en raison de leurs meilleures valeurs nutritives, de l'augmentation du rendement en lait chez le bétail, mais en Chine on les préfère comme aliments pour la pisciculture et la volaille (Dandin et Ramesh, 1987 ; Divedi, 1988 ; Bari, 1990 ; Singhvi et Sinha, 1991 ; Chinnaswamy et coll., 1993 ; Majumder, 1997 ; Radhakrishna et coll., 2000 ; Singhal et coll., 2001). La transformation biologique de la feuille de mûrier en ajoutant des ingrédients nutritionnels pour en faire un fourrage potentiel est l'un des avènements les plus prometteurs de l'optimisation de l'utilité des produits séricicoles dérivés (Ramesh et coll., 2003). Le mûrier est un excellent fourrage même par rapport à la luzerne et au foin d'avoine et on peut le cultiver comme fourrage stratégique dans les zones tempérées et tropicales du globe. Le taux de production, les niveaux nutritionnels, l'énergie de digestion, l'énergie du lait, les protéines brutes et les acides aminés du mûrier avec différentes méthodes de culture, saisons et apports d'engrais s'avèrent supérieurs / convenables comme fourrage animal à grande échelle (Iyengar, 2008a). On utilise les feuilles des plantes hôtes de l'eri, *M. utilisissima* (tapioca) et *Ricinus communis* (ricin) comme fourrage respectivement pour le bétail et les moutons / les chèvres et on utilise les feuilles / les graines des plantes hôtes du tasar, *Terminalia* spp. comme fourrage pour les moutons et le bétail (Siddiqui, 1988 ; Tewary et Rao, 1990 ; Mahji et coll., 1991 ; Sahay et coll., 1997 ; Yadav et coll., 1997 ; Prakash et coll., 2003 ; Saratchandra, 2003 ; Singh et coll., 2004 ; Barman et coll., 2005 ; Rao, 2007 ; Singhvi et coll., 2008). Les fruits des plantes hôtes mûrier et non mûrier sont consommés directement par les corbeaux, les petits oiseaux, les punaises pentanomidæ, les fourmis, les chiens, les animaux sauvages etc., dans l'écosystème (Srivastav et coll., 2007).

APPLICATIONS PHARMACEUTIQUES ET FORTIFIANTES

Les feuilles de mûrier sont une bonne source d'acide ascorbique, de carotène, de vitamine B1, C, d'acide folique, d'acide folinique, de calcium, de phosphore, de potassium, de magnésium, d'aluminium, de silice, de soufre, de cuivre, de bore, de manganèse et les jeunes feuilles de xanthophylle, d'isoquercitrine, de tannins, d'adénine, de choline et de trigonelline, ce qui les rend appropriées pour les médicaments et les fortifiants. On considère que les feuilles sont diaphorétiques, émollientes, que l'extrait des racines est anthelmintique et astringent, que les fruits sont laxatifs, désaltérants, refroidissent le sang et que c'est une boisson appropriée pendant la convalescence, après une maladie avec de la fièvre. Le bouillon de tiges et de racines diminue rapidement la tension artérielle quand on les extrait en utilisant de l'alcool et on utilise largement la chlorophylle obtenue des déchets dans les médicaments (Tewary et Rao, 1990 ; Chinnaswamy et coll., 1993 ; Aruga, 1994 ; Majumder, 1997). Le polyphénol des pousses de mûrier améliore la croissance des poils chez les lapins Angora et chez les moutons Colidale et la combinaison des polysaccharides rend la peau et les cheveux doux, ce qui indique leur valeur nutritive et thérapeutique (Aruga, 1994). Les racines de *M. nigra* ont un effet spécial sur la glycogénolyse, on peut les utiliser comme médicament contre le diabète pour diminuer les niveaux de sucres dans le sang. La déoxynojirimycine de la feuille de mûrier diminue le niveau de glucose dans le sang, l'acide gamma amino butyrique GABA, aide à faire baisser la tension artérielle, le phytostérol diminue le cholestérol du sang (Bose et Bose, 1990 ; Tewary et Rao, 1990 ; Shetty et Mohan, 2003). On utilise le latex du mûrier comme pommade dermique en

raison de ses propriétés cicatrisantes, le jus de racine de *M. nigra* diminue les sucres du sang, maîtrise la tension artérielle, tue les vers ronds, les ténias, et les ankylostomes avec ses propriétés anthelminthiques et purgatives et on a rapporté que ses composés de moranoline sont utilisés pour soigner différentes maladies (Bose, 1987 ; Dandin et Ramesh, 1987 ; Ray, 1990 ; Tewary et Rao, 1990 ; Shivakumar et coll., 1995 ; Han et coll., 2002 ; Ramesh et coll., 2003).

On utilise les glycoprotéines purifiées de la feuille de mûrier pour déterminer les groupes sanguins, pour purifier les conjugués de glycol, pour étudier les hydrates de carbone simples et complexes dans les solutions et à la surface des cellules (Absar et coll., 1995). L'extraction de la chlorophylle ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5RCH_3$) des déchets du ver à soie est bon marché par rapport aux méthodes conventionnelles et il y a une demande au niveau international pour des applications pharmaceutiques, comme agent cicatrisant, pour maîtriser le saignement des gencives et pour les maladies des dents. L'académie de Médecine Chinoise Traditionnelle de Zhejiang a mis au point le « GANXUEBAO » pour traiter l'hépatite et la leucémie à partir de chlorophylle et a rapporté un taux d'efficacité de 95,6 % chez les malades du cancer souffrant de la perte de globules blancs, à cause de la chimiothérapie et de la radiothérapie (Mandal, 1991). La boisson à base de poudre de feuilles de mûrier dissoute dans de l'eau froide a une bonne valeur médicinale, avec ses composés pharmaceutiques anti-cancérigènes et des propriétés élevées d'absorption des métaux (Sharma et Sinha, 2000). L'extrait méthanolique de la racine de mûrier a des propriétés anti-scorbutiques, anti-helminthiques, anti-inflammatoires, anti-pyrétiques, oxydantes et favorisent la fécondation. Les dérivés de racine, la Morusine (morusine 4-glycoside) et le Kuwanon ont des vertus curatives contre le HIV, la DNJ, alcaloïde, s'avère efficace contre le virus du SIDA. On a aussi constaté que la DNJ peut contrôler les alpha glucosidases intestinales et on utilise la décoction de racines dans la néphrite aigue (Suryanarayana, 2002 ; Ramesh et coll., 2003 ; Srivastav et coll., 2007).

Le thé vert sans sucre et sans toxine gagne du terrain sur le thé, le café, les boissons sucrées et alcoolisées en raison de sa valeur médicinale contre le diabète, la tension artérielle, le cholestérol, les graisses corporelles, les crampes / les douleurs musculaires, le cancer du foie, l'obésité, pour la régulation des battements cardiaques et pour l'augmentation des activités naturelles des organes (Shetty et Mohan, 2003). On utilise la chlorophylle, cupro-chlorophylline de sodium, la pectine, le phytol et le carotène dans les produits pharmaceutiques grâce à leurs propriétés antibactériennes, anti-cholestérol, anti-triglycérides pour préparer les médicaments chinois le GAN BAO, le WEI GAN LU, le GAN XUE BAO et plus de 30 types de médicaments aux USA contiennent du cuivre chlorophylline de sodium (Raju, 1996). Le jus de feuille de mûrier prévient les infections de la gorge, la malaria endémique, la diarrhée, la dyspepsie due au froid et la mélancolie, il maîtrise la fièvre élevée comme fébrifuge, il est diaphorétique, émollient, laxatif et on utilise l'écorce du tronc comme purgatif et vermifuge (Tewary et Rao, 1990 ; Majumder, 1997). La déoxynojirimycine (DNJ) présente dans la feuille de mûrier inhibe les propriétés enzymatiques de la décomposition du sucre pour lutter contre le SIDA. La glycoprotéine 120, en étant à la surface des chaînes de sucre transportant le HIV devient inerte pour envahir de nouvelles cellules en présence de DNJ et eela a des applications dans la maladie liée au sucre, le diabète (Ray, 1990 ; Tewary et Rao, 1990 ; Singh et Ghosh, 1992 ; Suryanarayana, 2002). Le travail de recherche de Kataro Kanno au *National Institute of Agrobiological Sciences*, au *National Food Research Institute*, et au *Japan International Centre* de la sous-station d'Okinawa montre que la toxicité du latex du mûrier contre les chenilles indique que les latex des plantes sont de bonnes cibles et des matières bioactives pour découvrir de nouveaux médicaments. Par ailleurs, on a rapporté que les concentrations élevées en inhibiteurs de la glycosidase mimétique du sucre, le ribitol-d-imino-d-1,4-deoxyl, 1,4, la deoxynojirimycine-1, l'arabinitol-d-imino 1,4-deoxy-1,4 dans les feuilles de mûrier ont des activités anti-diabétiques en inhibant l'alpha glucosidase de manière à établir un plus grand contrôle glycémique dans le diabète de type 2 (Bose et Bose, 1990 ; Ramesh et coll., 2003 ; Iyengar, 2007a). L'extrait de feuille de mûrier apporte un traitement viable contre la maladie d'Alzheimer (affaiblissement mental, perte de mémoire) par

l'inhibition de la formation de la fibrille du peptide beta-amyloïde (1-42) et par l'atténuation de la neurotoxicité induite par le peptide beta-amyloïde, par les substances anti-oxydantes pour prévenir l'athérosclérose (dépôt de lipides dans les artères) en diminuant les graisses jusqu'à 40 % ; les flavanoïdes de la feuille pourraient contrôler l'hyperlipidémie en soutenant l'activité des lipides favorables (Iyengar, 2007b). Le vin de fruits de mûrier aide à se débarrasser des impuretés et de la coprostase (résidus fécaux dans l'intestin) pour avoir un corps mince et une bonne santé (Sinha, 2008). On utilise aussi le fruit pour traiter les états de faiblesse, de fatigue, l'anémie, les vertiges, la constipation, la dépression, pour calmer les nerfs, pour augmenter l'immunité, contre l'indigestion, la gastrite chronique, l'hépatite, la pâleur, l'insomnie, les palpitations cardiaques, les yeux secs, pour améliorer la vue, pour prévenir le vieillissement, le grisonnement des cheveux, l'impuissance, pour tonifier la vitalité et comme fortifiant après de grosses opérations. Le jus de fruit est un antioxydant puissant et un antiviral, il augmente l'immunité, il protège sur le plan cardiovasculaire, et diminue le stress, les anthocyanines du jus améliorent la circulation du sang et le resveratrol est un complément nutritionnel. En Chine, on vend de la pâte de mûrier sous le nom de « Sangshengao » pour améliorer le foie, les reins, l'audition et la brillance des yeux (Kumaresan et coll. ; 2008). Les anthocyanines des fruits du mûrier présentent de nombreux bénéfices sur le plan physiologique, ils sont anti-oxydants, anticancérigènes, ils améliorent la vision, ils induisent l'apoptose des cellules de l'adénocarcinome et ils contiennent un autre antioxydant, le C3G connu pour inhiber la réponse inflammatoire de la lumière UV, les triglycérides du sérum et le cholestérol des lipoprotéines de haute densité.

L'activité des enzymes anti-oxydants comme la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR), la glutathion-S-transférase (GST) et la superoxyde dismutase (SOD) augmente en ajoutant de l'extrait de feuille de mûrier dans plusieurs conditions d'infestation chez les animaux et chez les plantes (Tripathi et coll., 2008). Le mûrier a des valeurs thérapeutiques pour l'arthrite, la dyspepsie, la mélancolie, les désordres nerveux, le traitement de la peau, la constipation, l'hypertension et l'hypoglycémie. Le butyle déoxynojirimycine (Butyle DNJ) s'avère plus efficace contre le SIDA et une autre forme de DNJ, l'homonojirimycine est efficace pour contrôler le diabète et présente une efficacité spéciale sur la glycogénolyse du pancréas (Suryanarayana, 2002). Les plantes du tasar, tout en représentant l'alimentation des vers à soie, sont aussi utilisées par les autochtones qui résident dans l'écosphère forestière comme médicaments. On a rapporté que les différentes parties des plantes hôtes non-mûrier *Terminalia* spp., *Shorea robusta*, *Ficus* spp., *Zizyphus* spp., *Tectona grandis*, *Madhuka longifolia*, *Psidium guajava*, *Eugenia cumini*, *Careya arborea*, *Ricinus communis*, *Celastrus* spp., *Cassia auriculata*, *Bauhinia* spp., *Buchmanian lanzen*, *Semecarpus anacardium*, *Holarrhema antidysenterica*, *Carissa carandas*, *Quercus* spp., *Careya arborea*, *Harwickia binata*, *Litsaea* spp, *Cinnamomum obtusifolium*, *Zanthoxylum rhetsa*, *Michelia chanpaca*, *M. utilisissima*, *Jatropha curcas*, *C. papaya*, *Plumaria* spp., *Tamarindus indica*, *S. cumini*, *Ailanthus excelsa* appartenant à 21 familles ont une valeur médicinale contre la fièvre, l'indigestion, la dysenterie, l'asthme, les ulcères intestinaux, le manque de lactation, la déshydratation, les enfléments, la tuberculose (TB), les hémorroïdes avec saignements, la toux, le diabète, la syphilis, les rhumatismes, les douleurs musculaires, les maladies cardiaques, la constipation, la malnutrition, les maux de tête, les maladies de peau, le maux de dents, les boutons, la gonorrhée, la jaunisse, les maladies des yeux, les douleurs de l'estomac, les oreillons, les maladies urinaires ainsi que pour la purification du sang, pour ouvrir l'appétit, pour la croissance des cheveux et contre les morsures de serpents et les piqûres de scorpion (Narayanawamy et coll., 1990 ; Yadav et coll., 1997 ; Naika et coll., 2000 ; Singh et coll., 2004 ; Srivastav et coll., 2007 ; Singhvi et coll., 2008).

APPLICATIONS INDUSTRIELLES

La teneur en alcool, en benzène, en fibres alpha, bêta et gamma, en lignine, en hémicelluloses comme le pentosane et le galactane, en azote, en protéines brutes, en métoxyle, en cendres et en pectines chaulées du mûrier indique ses applications dans un ensemble d'industries (Aruga, 1994). Les déchets de litière, la litière, et les rameaux / les feuilles de mûrier inutilisés possèdent de bonnes quantités d'azote, de phosphore, de potasse, d'enzymes et de micronutriments comme le fer, le manganèse, le zinc et le cuivre (Tableau VI) qui ont des applications dans le vermicompost (Bari, 1990 ; Aruga, 1994 ; Das et coll., 1997 ; Pandey et coll., 2008 ; Setua et Setua, 2008). L'écorce de mûrier blanchie et digérée est utilisée pour extraire une fibre douce et blanche utilisée dans les industries textiles et en Chine et en Europe l'écorce du tronc, les jeunes et les petites branches taillées sont utilisées dans l'industrie du papier (Tewary et Rao, 1990). Les branches de mûrier ont une bonne valeur énergétique en tant que combustible avec 4600 calories par kg de bois de mûrier et 27941 kilos calories par hectare, en plus de sa valeur en tant que matériel de semence pour une nouvelle plantation. Le potentiel thermique du mûrier est bien supérieur à celui d'autres résidus agricoles et d'autres espèces d'arbres (Tableau VII), ce qui indique son potentiel d'exploitation dans le marché du bois comme combustible (Chinnaswamy et Hariprasad, 1995, 1998 ; Ramesh et coll., 2003). La génération d'un kg de déchets à partir de 10 kg de feuilles de mûrier consommées par les vers à soie et les applications de l'extraction de leur chlorophylle pour faire du dentifrice, du savon, du shampoing, des crèmes indique le potentiel des ses sous-produits (Raju, 1996 ; Nair et coll., 1999). On utilise les constituants chimiques des pousses, du bois et de l'écorce (Tableau VIII) pour extraire des adhésifs, des produits chimiques industriels, des plastiques biodégradables, des polymères, des hormones de croissance des plantes, des peintures, du vinaigre, des revêtements de crayon, des panneaux de particules, des fibres, du charbon de bois et du charbon actif de qualité élevée. On utilise le phloème des pousses comme source de fibres et on utilise les fibres ressemblant à du coton extraites de cette manière comme coton supplémentaire pour le filage et les fibres extraites ressemblant à du jute pour faire des cordes et des filets. La pulpe faite à partir de mûrier non utilisé est très utile dans les industries du papier et on utilise l'écorce du mûrier pour faire du cuir artificiel (Majumder, 1997 ; Ramesh et coll., 2003). Le papier, les panneaux de particule, les cartons et les adhésifs pour bois extraits à partir des pousses des plants de *M. alba* (mûrier) et de *Terminalia tomentosa* (asan) sont meilleur marché par rapport à ceux qui existent, on peut les parfumer avec des pétales de fleurs et ils sont respectueux de l'environnement et biodégradables. Les rameaux, les petites branches sont les matériaux de base dans l'artisanat pour faire des bagages et des sacs artistiques / fantaisie et un hectare de rameaux de mûrier peut rapporter un revenu supplémentaire de 300 \$ de grâce à l'activité de vannerie. On peut produire de manière commerciale des produits chimiques comme l'éthanol, l'acétone, le butanol, l'acide citrique, l'acide acétique, l'acide glutamique, les nucléosides, les vitamines, les acides gras et les acides aminés grâce aux déchets séricicoles comme matériau de base (Dandin et Ramesh, 1987 ; Tewary et Rao, 1990 ; Majumder, 1997 ; Iyengar, 1998 ; Ramesh et coll., 2003 ; Sarkar et Datta, 2006 ; Singhvi et coll., 2008). Le déchet de mûrier est un substrat idéal dans la transformation biologique grâce aux micro-organismes, pour l'extraction d'enzymes industrielles comme la protéase, la lipase, la glycosidase, la glucose isomérase, la topoisomérase et l'invertase (Ramesh et coll., 2003).

L'extraction de gaz organique des déchets du ver à soie et son utilisation pour cuisiner renferme un grand potentiel dans les zones séricicoles rurales. Les biocombustibles sont aussi utiles dans l'industrie, le transport ou comme matériaux de base pour les industries chimiques et il faut explorer les nouveaux concepts de moteurs à base d'alcool, afin d'utiliser le pétrole vert produit à partir de biomasse de mûrier (Ramesh et coll., 2003). Les études sur les compléments en azote et en phosphore par l'intermédiaire des engrais biologiques chez le mûrier et sur la multiplication des champignons NFB, PSM et VAM, sur la fixation de l'azote et sur la solubilité du phosphate par la rhizosphère de la racine de mûrier indiquent des perspectives pour les déchets de mûrier en matière d'engrais

biologiques (Ramesh et coll., 2003). Même la culture saisonnière de variétés choisies de mûrier donnant des rendements élevés en fruits, avec une commercialisation organisée, a un avenir prometteur en raison de la valeur potentielle des fruits (Masilamani et coll., 2008). La plante hôte de l'eri *M. utilisissima* (tapioca) répond à 25 % des besoins de l'Inde en amidon avec son rendement de 10 à 15 tonnes de tubercules par hectare et a des applications industrielles plus importantes ; l'autre plante hôte *R. communis* (ricin) a un potentiel dans des applications telles que l'huile, les engrais et les pesticides. Même les déchets du ver à soie Eri ont des applications comme engrais et comme pesticides, en raison de ses concentrations très élevées en acide urique (Sahay et coll., 1997). La gomme extraite des plantes hôtes non-mûrier *Anogeissus latifolia* (dhaura), *Shorea robusta* (sal), *Terminalia arjuna* (arjun), *T. tomentosa* (asan), le latex de *Ficus bengalensis* (wad), *Ficus religiosa* (peepal), *C. papaya* (papaye), *J. curcas* (jatropha) doit être exploitée (Narayanaswamy et coll., 1990 ; Yadav et coll., 1997 ; Naika et coll., 2000 ; Shukla et coll., 2003 ; Singh, 2008 ; Singhvi et coll. ; 2008). L'écorce et les fruits des arbres *T. arjuna* (arjun) et *T. tomentosa* (asan) sont riches en tanins et ont des applications dans l'industrie du cuir (Singhvi et coll., 2008).

APPLICATIONS COSMETIQUES

La capacité d'hydratation du jus de feuille de mûrier laisse la peau douce et saine (Shivakumar et coll., 1995 ; Singhal et coll., 2001) et la chlorophylle des déchets du ver à soie du mûrier, les polyphénols, les polysaccharides comme la pectine et le glucose des pousses de mûrier forment un matériau visqueux, qui rend la peau et les cheveux doux (Majumder, 1997). Un verre de vin de mûrier par jour donne une silhouette mince et gracieuse et améliore l'état général de la santé (Sarkar et Datta, 2006 ; Sinha, 2008). Les études par le Département de Pharmacologie de l'Université de Mahidol, en Thaïlande ont révélé que les extraits de l'hybride de mûrier mis au point à partir de *M. alba* et *M. rotundiloba* s'avère être une bonne source d'un nouvel agent thaïlandais de blanchissement en raison de son activité anti-tyrosinase. Les études de l'Université de Kyunghee, de Séoul en Corée suggèrent qu'on peut utiliser le Mulberroside-F isolé à partir des feuilles de mûrier comme un agent de blanchissement de la peau. Une autre étude de France montre qu'on peut utiliser le resveratrol comme additif avec un extrait de *M. alba* dans les cosmétiques de blanchissement. En Chine, on utilise le fruit du mûrier dans des buts cosmétiques comme les traitements de la peau, pour l'entretien des yeux et pour tonifier le sang, pour la pâleur de la peau, contre le grisonnement et pour la croissance des cheveux, pour la tonification des muscles et comme anti-vieillesse en raison de sa richesse en anti-oxydants (Sharma et Sinha, 2000 ; Kumaresan et coll., 2008 ; Tripathi et coll., 2008). On utilise l'huile extraite des fleurs de la plante hôte non mûrier, *Tectona grandis* (sagun) et du noyau de *T. bellerica* (la demeure du diable) dans les cosmétiques comme promoteur de la croissance des cheveux et comme soin pour les cheveux (Yadav et coll., 1997 ; Naika et coll., 2000).

APPLICATIONS POUR LE BOIS

Le bois de mûrier a des applications de valeur plus importantes pour réaliser des articles de sport, des outils agricoles, des meubles et des articles ménagers. Le bois est élastique, flexible et on peut le courber en utilisant la vapeur, pour réaliser des crosses de hockey, des raquettes de tennis, de badminton et de squash, des battes et des piquets de cricket, des manches pour la cueillette, des bobines, des poignées pour différents outils et à Meerut (UP) et Jallunder (Penjab), 80 petites industries sont impliquées dans cette activité. Dans les zones rurales, on préfère le bois de mûrier pour faire des barreaux, des poteaux, des manches et les parties courbées des attelages et des charrettes. Le bois convient pour faire du contreplaqué, du lambris, de la sculpture et du tournage, des boîtes, des jouets ainsi que pour les bateaux et pour les navires, en raison de sa solidité, de sa durabilité, de son élasticité, de sa douceur et de son absence de défauts (Tewary et Rao, 1990 ; Singhal et coll. ;

2001 ; Suryanarayana, 2002 ; Srivastav et coll., 2007). On utilise aussi le bois des plantes non-mûrier telles qu'asan, arjun (*Terminalia* spp.) et sal (*S. robusta*) pour faire des outils agricoles, des meubles, des charrettes, des panneaux pour plafond, des boîtes d'allumettes, des attelles, des broyeurs de riz, des placards, des bâtiments ignifuges et, dans le commerce, le bois d'asan est populairement connu comme du laurier (Siddiqui, 1988 ; Mahji et coll., 1991 ; Singhvi et coll., 2008).

APPLICATIONS DANS LA LUTTE CONTRE LES MALADIES ET LES PARASITES

Les cendres du bois des plants de *T. arjuna* (arjun) et de *T. tomentosa* s'avèrent efficaces contre les virus jusqu'à 85 % chez le ver à soie tasar, en raison de son activité alcaline élevée et stable avec un pH d'une valeur de 10,5 à 11,5. Les cendres s'avèrent plus efficaces que la poudre de chaux, de plus leur coût est moins élevé et elles sont respectueuses de l'environnement (Singh et coll., 2004). La cendre de bois s'est avérée efficace comme anti-viral contre le virus de la polyédrose cytoplasmique chez *Antheraea mylitta* D. (Singh et coll., 2006). Le vinaigre de bois de mûrier maîtrise la croissance et la germination des champignons *Beauveria bassiana* et on peut l'appliquer pour lutter contre la maladie de la muscardine chez le ver à soie (Iyengar, 1998). On a rapporté que la cendre de bois de mûrier est efficace contre la polyédrose nucléaire, la flacherie et la densonucléose jusqu'à 80-90 % en raison de son effet alcalin stable (Kumar et coll., 2000 ; Singhal et coll., 2001). Les extraits de feuille et de graine de la plante hôte non-mûrier *C. papaya* (papaye) ont des propriétés insecticides (Naika et coll., 2000). On utilise la poudre de déchets du ver à soie eri comme insecticide efficace dans les rizières, en raison de sa richesse en acide urique et l'huile et le tourteau de la plante de ricin (*R. communis*) ont une valeur pesticide (Sahay et coll., 1997). Le latex du mûrier peut être une bonne cible pour les pesticides, en raison de sa nature toxique et de son mécanisme défensif contre les herbivores (Iyengar, 2007a) et le tourteau et l'huile de *J. curcas*, la deuxième plante hôte du ver à soie eri a des applications insecticides contre *Hyblaea pueria*, *Eutectona machaeralis*, *Plecoptera reflexa* et *Pyrausta bambucivora*, fongicides contre *Schizophyllum commune* et nématocides contre *Meloidogyne incognita* (Nataraj et coll., 2008 ; Singh, 2008).

APPLICATIONS CONCERNANT L'EXTRACTION D'HUILE

Le mûrier, *M. alba* donne environ un kg de graines par an par plante et ses 32 % d'huile riches en acide oléique le rendent utile pour le savon, les cosmétiques, les huiles de massage corporel, les peintures et les préparations alimentaires pour la volaille, les poissons et le bétail (Srivastav et coll., 2007 ; Yeasmin et coll., 2007). *J. curcas*, la plante hôte du ver à soie eri peut donner un à cinq tonnes de graines par hectare, avec un pourcentage d'huile de 30 à 40 % ; elle peut donner 1 litre d'huile non comestible à partir de 3 kg de graines et elle s'avère efficace comme insecticide (Solanki, 2005 ; Rajasekharagowda et coll., 2006 ; Nataraj et coll., 2008). L'huile jatropha de la plante *J. curcas*, s'avère efficace comme biodiesel avec une valeur calorifique de seulement 16,6 % inférieure à celle du diesel, ce qui indique ses futures perspectives comme alternative au diesel (Nevase et coll., 2008 ; Singh, 2008). Les huiles des plantes non-mûrier comme *Celastrus paniculata* (dhivar), *R. communis* (erandi), *Zanthoxylum retsa* (bajramani), *C. monosperma* (bhemloti), *Tectona grandis* (sagun), *Litsae* spp. (arbres meda), *Cinnamomum obtusifolium* (camphre), *T. chebula* (myrobalan) ont une valeur commerciale et ont besoin d'être explorées et exploitées (Narayanaswamy et coll., 1990 ; Yadav et coll., 1997 ; Naika et coll., 2000 ; Singhvi et coll., 2008). On considère les huiles essentielles des plantes hôtes du muga comme *Magnolia pterocarpa*, *Cinnamomum bejolghota* et *Litsea cubeba*, avec une teneur élevée en éther méthylique d'eugényl et une odeur agréable, comme des substances défensives en tant que répulsifs et toxines, mais elles ne sont pas chimiquement adaptées à tous les insectes, ce qui indique leur utilisation probable pour mettre au point des phyto-insecticides

spécifiques aux espèces. Par ailleurs, la relation de ces huiles essentielles de plantes hôtes avec la couleur et la qualité de la soie produite par *Antheraea assama* indique leur importance pour améliorer les catégories de soie (Chowdhury et coll., 1998 ; Chowdhury et Laclereq, 1998 ; Chowdhury, 2002).

APPLICATIONS DANS LA COLORATION DES TISSUS

On a rapporté que l'écorce de *T. arjuna* est une base appropriée pour l'extraction de l'acide oxalique et l'écorce et les fruits de *T. arjuna* et de *T. tomentosa* sont riches en tannins et ont un potentiel prometteur dans l'industrie des colorants (Yadav et coll. ; 1997 ; Singhvi et coll., 2008). On utilise les extraits de tannins du bois de mûrier à des fins de coloration et dans le tannage. Ils peuvent produire les couleurs violette et rouge et on les utilise dans la coloration des tissus et de manière traditionnelle pour teindre la laine (Sinha, 2008).

APPLICATIONS DANS LA SYLVICULTURE SOCIALE

La plantation de plantes hôtes du tasar dans les terres en friche / stériles augmentera la surface de zone verte, servira de lien harmonieux entre le bien-être tribal et la conservation de la forêt avec la production de tasar. Par ailleurs, il permet de conserver la fertilité du sol, de recycler l'eau, de produire de l'oxygène, de contrôler la pollution, de protéger la vie sauvage et l'équilibre écologique (Siddiqui, 1988). L'élevage des vers à soie tasar génère des déchets et on peut recycler les feuilles de la plante hôte comme nutriments dans le microenvironnement qui s'est développé et cette activité fait partie intégrante de l'écosystème, pour maintenir son équilibre (Kakati, 2006 ; Rao, 2007). Le mûrier pousse plus vite, quels que soient les sols et les climats, avec une valeur économique importante comme fourrage, combustible, médicament et bois et a un potentiel dans la sylviculture agronomique et sociale (Singhvi et Sinha, 1991 ; Singh et Ghosh, 1992). Les plantes hôtes non mûrier comme *J. curcas* ont plus de potentiel dans la sylviculture sociale, en raison de leur applications comme bio-diesel et du fait que l'on se dirige vers des procédures et des systèmes de transport respectueux de l'environnement.

APPLICATIONS ORNEMENTALES

Dans les parties du nord-ouest de l'Inde, le mûrier est populaire comme arbre ornemental, pour créer de l'ombre et pour border les avenues. De nombreuses variétés de mûrier ont une valeur ornementale et une des variétés russes avec des branches tombantes forme un des meilleurs arbres retombant de pelouse, qui est connu populairement en Amérique comme le mûrier pleureur « TEAS ». Une autre variété *venulosa* de *M. alba* est l'une des meilleures plantes ornementales avec des feuilles lobées séduisantes (Singal et coll., 2001 ; Srivastav et coll., 2007).

CONCLUSION

Pour son développement global, l'industrie séricicole doit considérer la consommation des plantes hôtes dans leur ensemble pour réaliser différents produits de valeur, commercialisables, destinés à des applications de la société moderne. Bien que les pratiques traditionnelles ne les utilisent que comme nourriture pour les vers à soie, les nouvelles approches ouvrent des perspectives pour des produits dérivés des plantes hôtes, au plus large potentiel fonctionnel. Grâce à l'exploration opportune des applications des sous-produits, à partir de leur transformation biologique, de leur fermentation, de la microbiologie, de la phyto-technologie, de la bio-technologie, du génie génétique, dans le ciblage de médicaments et par des approches de distribution, il est possible transformer les matières premières et les déchets en objets et en valeur. Par ce biais les déchets des plantes hôtes du ver à soie peuvent

être transformés en alimentation pour les hommes et pour les animaux, en médicaments, en fortifiants, en cosmétiques, en bois, en pesticides, en huiles, en colorants, en sylviculture sociale, en produits d'ornement et pour d'autres industries associées considérées intéressantes de par leur création d'emplois et de revenus. La demande augmente pour les produits transformés à valeur ajoutée, pour sauvegarder les déchets par leur transformation et les utiliser à des fins économiques. Par ailleurs les produits transformés permettent un prolongement de la durée de stockage, une meilleure manipulation, diminuent la détérioration pendant le transport, ils sont adaptés au marché intérieur et international et aux exportations, principalement pour la création de valeur ajoutée. Cependant, ce mouvement demande l'utilisation des ressources complètes que renferment les plantes hôtes par les cultivateurs, afin d'augmenter la valeur de leurs revenus. A ce tournant, il est peut être nécessaire que les technologies d'utilisation des ressources disponibles soient redéfinies par tous ceux qui sont concernés, en soutenant le système de vente afin d'encourager les entrepreneurs à proposer un plus vaste choix de produits à valeur commerciale. La prise de conscience concernant les applications des plantes hôtes du ver à soie et l'application des technologies appropriées ont une signification et ces ressources offriront assurément de solides perspectives commerciales.

APPLICATION OF BIOTECHNOLOGICAL TOOLS IN TASAR CULTURE

P. K. TEWARY*, P. K. KAR, O. P. DUBEY, M. K. SINGH & N. B. VIJAYAPRAKASH

Central Tasar Research and Training Institute, Central Silk Board, Piska Nagri, Ranchi- 835303, India.

*Tasar culture is an agro forest based industry of the indigenous tribes, who are in dire need of high yielding, season specific and resistant breed(s) of tasar silkworm (*Antheraea mylitta* Drury) and of food plants (*Terminalia* spp.). The biotechnology arsenals operated through genomics, proteomics, bioinformatics and transgenesis hold the key to facilitate the bringing up of desired products in tasar culture. The paper portrays about the latest biotechnological tools and their applicability. A comprehensive review on the molecular genetic works attempted so far in tasar silk worm and host plant have been reviewed, followed by adoption of suitable strategies on use of the biotechnological tools to solve the constraints of tasar culture.*

Keywords: Biotechnology, tasar culture, markers, tissue culture, *Antheraea*, *Terminalia*, *Shorea*.

INTRODUCTION

Tasar silkworm (*Antheraea mylitta* Drury) is commercially utilized for production of *vanya* or wild silk. The species is polyphagous in nature and distributed in a wide range of geo-climatic conditions of Indian subcontinent expressing wide variation in phenotypic, physiological, behavioral and commercial traits. Various geographically isolated population of *A. mylitta* inhabiting small territories favors the adaptation to local conditions and thus resulted in the evolution of ecoraces. The primary food plants of tasar silkworm include *Terminalia arjuna* Bedd. *T. tomentosa* W. & A., *Shorea robusta* G. whereas there is a dozen of secondary host plants also, such as *T. chebula*, *T. bellirica*, *Lagerstroemia* spp., *Anogeissus* spp. etc. These potential genetic resources are the ideal material to be used for crop improvement, evolution of disease resistant breeds and introgression of useful traits in commercially utilized breeds. In recent years the biotechnological tools have been applied in various crops on a global scale. The same can be applied in tropical tasar also. Hence, the paper deals with a general account of the work done so far in tasar silkworm and its host plant so as to facilitate the researchers to acquaint themselves and work on the future aspects.

STATUS ON MOLECULAR STUDIES IN TASAR CULTURE

TASAR SILKWORM

Molecular Phylogenetic aspects:

Under molecular phylogeny aspects a number of efforts have been made for establishing phylogenetic relationship among the evolutionary offshoots of the phylogenetic tree. Prasad *et al.*,

* Email: prakash_tewary@rediffmail.com

(2002) have reported the phylogeny and pattern of divergence of mariner like elements (MLEs) in silkmoths in relation to the phylogeny of the host species. Almost all the silkmoths MLEs contain conserved features that are characteristic to MLEs such as the D,D(34)D motif. Out of 33 partial MLEs sequenced 31 were defective due to stop codons or frame shifts in the transposase ORF. So also was the case with the three copies of the full-length mariner elements isolated from *A. mylitta*. Their results indicated that, in general, phylogenetic relationships between MLEs obtained from diverse silkmoths are similar to the phylogeny of the host species consistent with the vertical inactivation stage of the MLE life cycle. It looks probable that most of these elements were present in the ancestral lineage prior to the divergence of these species and neutral evolution has occurred independently in each copy with respect to coding of amino acids in the transposase gene. For example, the MLEs from *Antheraea* species, *A. roylei*, *A. pernyi*, *A. proylei*, *A. mylitta*, and *A. yamamai* clearly belong to a subgroup of closely related elements within the *Cecropia* subfamily. *A. assama* is considered different from the other *Antheraea* species, and more close to the common ancestor of *Antheraea* and *Philosamia*. Accordingly, the MLEs from *A. assama* comprise a separate subgroup within the *cecropia* subfamily, along with the MLEs from probably related species, *A. polyphemus*. These results imply that the MLEs from *Cecropia* subfamily existed in the genome of the common ancestor of the *Antheraea* and *Philosamia* species.

Prasad and Nagraju (2003) reported that Mariner like elements (MLEs) are widely distributed type II transposons with an open reading frame (ORF). Comparative phylogenetic evolution and inverted terminal (ITR) conservation of MLEs from Indian saturniid silk moth *A. mylitta* were studied with other full length MLEs. They have described that full length MLEs were inactive with multiple mutations. Many conserved amino acid blocks were identified after aligning transposase sequences. Mariner signature sequences were almost invariable although a few new classes of elements had different signatures. *A. mylitta* MLEs (*Annmarr*) get phylogenetically classified under *Cecropia* subfamily and Bombycidae superfamily.

Hwang *et al.*, (2004) have worked on comparative molecular study between Bombycidae and Saturniidae based on mtDNA RFLP and cytochrome oxidase I gene sequences. Implication for molecular evolution, reported comparative sequence analysis have shared a 9%, 85% and 8% sequence identity with *B. mandarina*, *A. yamamai*, and *A. pernyi* respectively. *A. yamamai* shared 92% sequence identity with *A. yamamai* and *A. pernyi* respectively. This exhibits monophyle and confidence limits of more than 99% in all for both Bombycidae and Saturniidae.

Molecular Characterization aspects:

Under characterization for establishing relationship among the ecoraces or breeds or evolved lines, various efforts have been made, using mostly the dominant molecular markers. Chatterjee *et al.*, (2004) attempted molecular characterization and worked on ISSR profiling of genetic variability in the Raily ecotypes of *A. mylitta* and presented the DNA polymorphism unraveled by 12 ISSR primers for 11 population of *A. mylitta* belonging to 6 ecotypes and 41 individuals of Raily ecotypes collected from five zones. This gives molecular evidence on genetic differences between eleven ecotype populations and highlights the genotypic diversifications of a single ecotype into further separate discrete gene pools. The analysis revealed grouping of the five population of Raily ecotype into two clumps. The analysis also identified nine markers which can be utilized to characterize specific population. In one set 34 accessions of tasar silkworm were PCR amplified using 13 ISSR primers (UBC) a total of 274 bands were obtained of which 259 bands were polymorphic. Variation was observed within and between ecotypes. The analysis showed that significant variation exist within a single population.

Kar *et al.*, (2005) studied the genetic diversity in the wild and semi-domestic populations of Daba ecorace of *A. mylitta* to ascertain the distribution of variability within and among populations with ISSR markers. A total of 138 markers were produced among 56 individuals of the three populations,

of which 98% were polymorphic. The population genetic aspects were also worked out. Considerable intra- and inter-population variability is found in all three populations. The population structure analysis further suggests that the semi-domestic populations of Daba ecorace are at the threshold of differentiating themselves. The high genetic variability present within wild Daba population of *A. mylitta* is of much importance for conservation as well as utilization in systematic breeding programme.

Ghosh *et al.*, (2005) worked on molecular characterization of Pao like long terminal repeat retrotransposons, Tamy in saturniid silkworm *Antheraea mylitta* and presented that a long terminal (LTR) retrotransposon Tamy was obtained by screening *Antheraea mylitta* sub genomic DNA library with PCR amplified partial fibroin gene sequences as probe. Tamy has 1305 nucleotide long LTRs at its 5'- and 3'-ends with characteristic features of a functional LTR retrotransposon. Starting from its N terminus nucleic acid binding motif (cys) protease, reverse transcriptase, RNase and integrase domains were present in sequential order. RT domain in Tamy showed high homology with Pao like retro transposable elements.

Datta *et al.*, (2000) have reported purification and characterization of fibroin gene from *A. mylitta* and further on differential expression of this gene in developmental stage of silkworm *A. mylitta*. Qanungo *et al.*, (2000) reported characterization of cypoviral isolates from tropical and temperate Indian saturniid silkworm. Qanungo *et al.*, (2002) made studies on molecular cloning and characterization of *A. mylitta* cytoplasm polyhedrons virus (CPV) genome segment. Datta *et al.*, (2005) studied the molecular characterization of *A. mylitta* CPV polyhedrin gene and its variant forms.

Scientists at Indian Institute of Technology, Kharagpur have reported that a total of 24 sets of RAPD primers produced 415 reproducible bands and were used to generate the distance matrix and subsequent clustering. Out of seven sets of SCAR primers, a single primer pair produced polymorphic SCAR bands which are used to diagnose five of the ten ecoraces. The southern hybridization and sequence analysis show the repetitive nature of the Taq DNA fragment designated as *A. mylitta* Taq repeat family, AmTRF (Ghosh *et al.*, 2005)

TASAR FOOD PLANTS

Molecular Genetic Studies:

Tewary and Suryanarayana (2007) developed the protocol for isolation and purification of genomic DNA from the tasar silkworm host plants viz. *Terminalia tomentosa*, *T. arjuna*, *T. belerica* and *T. chebula*. They have also used these DNA for PCR amplification using random decamer primers.

Not much work has been done on primary food plants species, therefore works on allied species are reviewed. Pither *et al.*, (2003) have studied *Terminalia amazonia* using RAPD analysis. In total 30 RAPD bands were generated by five decamer primer which were used to compare the genetic diversity of six populations in two groups. Genetic variation within the population as estimated by Shanon diversity index ranged from 0.32 to 0.38 with an overall diversity of 0.38. Analysis of molecular variance revealed that most of the variation was attributable to differences among individual within population. Population differentiation was significantly lower among the fragmented population than among the continuous forest population. On an average the fragmented population also had slightly but statistically significant lower level of genetic diversity. One gallery forest site had higher level of genetic diversity than two of the continuous forest sites. It is suggested that long-term fragmentation of genetic diversity of tropical trees will depend upon the amount of local forest cover in proximity to the fragmented population.

Warude *et al.*, (2003) reported the method to obtain DNA in quality and quantity from plants such as *Embolica officinal*, *Terimnalia belerica*, *T. chebula* which have low pH and high amounts of secondary metabolites in tissue extracts. The modified DNA isolation method yields good quality high

molecular weight DNA that is free of contaminants and colored pigments and is suitable for PCR amplification, also suitable for isolating DNA from dry powder.

The isozymes variation within and among population has been extensively studied in many wood plants including tropical species. Significant correlation between isozyme and quantitative traits is evident. Suoheimo *et al.*, (1999) have reported isoenzyme based genetic diversity in natural population of *Shorea robusta* using 12 loci from 8 isozyme systems. The mean number of alleles per locus was 2.16 and 58.3 % of the loci were polymorphic.

Kamiya *et al.*, (2005) have reported phylogeny of PgiC gene in *Shorea* and its closely related genera (Dipterocarpaceae), the dominant trees in south east Asian tropical rain forest and informed that sequences generated in a gene tree with better resolution than previous cpDNA trees. The Pgi C tree is essentially consistent with cpDNA trees except for the placement of *Neobalanocarpous*. Ujino *et al.*, (1998) have reported developmental and polymorphism of simple sequence repeats DNA markers for *Shorea curtissi* and other Dipterocarpaceae. Four SSR markers She01, She04, She07, She09 were found highly polymorphic.

Tissue Culture Studies:

Not many reports are available on tasar host plant tissue culture, except a few sporadic attempts. Nishi *et al.*, (1998) induced callus from leaf explants of *Terminalia arjuna* on MS medium supplemented with 2,4-D (5.0 mg/l) and Kinetin (0.01 mg/l). Somatic embryogenesis was achieved from callus culture and in turn plant regeneration was reported on MS medium fortified with 2% sucrose and gelled with 0.8 % agar. Tirkey *et al.*, (2002) have studied the effect of anti oxidants and absorbent on tissue browning metabolism in *Terminalia arjuna*. Phenolic exudation in the explants/ cultures was controlled by adding citric acid (10.0 mg/l), PVP (50.0 – 150.0 mg/l) and ascorbic acid (50.0 – 100.0 mg/l) to the media. Genetic differences in response of *in vitro* shoot induction of *Terminalia arjuna* varieties were also studied by Tirkey *et al.*, (2002). Out of five genotypes tested B2 responded maximum towards sprouting percentage and shoot growth on MS media supplemented with BAP (0.5 mg/l), Kn (2.0 mg/l) and NAA (0.1 mg/l.).

Ramesh *et al.*, (2002) reported shoot induction and proliferation from nodal explants of mature tree of *Terminalia arjuna* on TDZ (0.05 mg/l) fortified MS medium. The performance of TDZ as compared to BAP and Kinetin was found much better. Rhizogenesis was obtained on ½ MS or B5 media supplemented with IBA (1.0 – 4.0 mg/l). Regenerated plantlets were established in the greenhouse.

Micropropagation protocol from nodal explants of *Terminalia bellerica* seedlings has been developed by Ramesh *et al.*, (2005) by culturing the explants on MS medium supplemented with 13.3 µM BAP. Subsequently, *in vitro* shoots were multiplied on MS medium with lower concentration of BAP i.e., 4.4 µM. Rooting was observed under *in vitro* condition on modified B5 medium or wood plant medium fortified with 4.9 µM IBA. Shyamkumar *et al.*, (2003) developed *in vitro* propagation protocol for *T. chebula*. Multiple shoots from cotyledon node explants has been induced on 1/2 MS media supplemented with 0.3 mg dm⁻³ GA3 + 1.0 mg dm⁻³ IBA + 10.0 mg dm⁻³ BAP. Somatic embryogenesis in callus cultures of *T. chebula* has been achieved by Anjaneyulu *et al.* (2004) exploiting the seedling explants (cotyledon, hypocotyl etc.). The cultures of somatic embryos open an avenue for genetic transformation in such important tree species. Shyamkumar *et al.* (2007) have also studied genetic transformation of *T. chebula* via *Agrobacterium tumefaciens* strain C-58. Cotyledon explants were found responsive to transformation and detection of nopaline in transformed callus was observed indicating presence of tannic acid in the tissue.

Jain *et al.*, (2002) have reported *in vitro* propagation of shoot of *Shorea robusta* G on MS media supplemented with different growth regulators. Rhizogenesis has been achieved from cut end of *in vitro* shoots. Tewary *et al.* (2007) have reported callus induction and proliferation from leaf explants

of *Shorea robusta* on MS media supplemented with 2,4-D + Kn and studied the growth rate of callus proliferation.

FUTURE BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

In the perspective of tasar culture constraints and potentials where the tasar silk producer are poor indigenous tribes who are neither monetarily nor literally equipped to translate the technologies should be provided with ready made high yielding and resistant food plant and silkworm breeds which can sustain adverse conditions with least input application. Biotechnology holds the key through which some significant achievement can be anticipated. The tools and techniques used for crop improvement in many economically important plant and animal genetic resources hold good for tasar silkworm as well as host plant. They include genome analysis, identification of QTLs, development of disease and stress resistant/tolerant races/breeds/varieties, attempting to manipulate the regulation and expression of desired gene or set of genes and host plant-insect interaction. Transgenic host plants and silkworm may also be one of the future propositions to have a new avenue in tropical tasar culture.

REFERENCES

- ANJANEYULU, C., SHYAMKUMAR, B. and GIRI, C.C. (2004). Somatic embryogenesis from callus cultures of *Terminalia chebula* R. an important tree. *Tree Struct. Funct.*, 18: 547-552.
- CHATTERJEE, S.N., VIJAYAN, K., ROY, G.C. and NAIR, C.V. (2004). ISSR profiling of genetic variability in the ecotypes of *Antheraea mylitta* Drury, The tropical tasar silkworm. *Russian J. Genet.*, 40, 8(2): 152-159.
- DATTA, A., GHOSH, A.K. AND KUNDU, S.C (2000). Purification and characterization of fibroin from the tropical saturniid silkworm *Antheraea mylitta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 1013-1018.
- DATTA, A., GHOSH, A.K. AND KUNDU, S.C (2005). Differential expression of the fibroin gene in developmental stages of silkworm *Antheraea mylitta* (Saturniidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 129: 197-204.
- GHOSH, A.K., ABHIK, DATTA, B. MAHENDRAN AND KUNDU, S.C. (2005). Molecular characterization of Pao like long terminal repeat retrotransposon Tamy in saturniid silkworm *Antheraea mylitta*. *Curr. Sci.*, 89(3): 539-543.
- HWANG, J.S., LEE, J.S., GOOTW, K., SOHN, H.R., KIM, H.R. AND KWON, O.Y. (2004). The comparative molecular study between Bombycidae and Saturniidae based on mtDNA RFLP and cytochrome oxidase I gene sequences: implication for molecular evolution. *National Sericultural and Entomological Research, RDA, Suwon Korea*.
- JAIN, M. AND CHATURVEDI, S. C. (2002). *In vitro* proliferation of shoot of *Shorea robusta* F. in (Eds. S.K.Nadi, L.M.S. Palvi and A. Kumar) *Role of plant Tissue culture in Biodiversity Conservation and Economic development*. Gyanodya Prakashan, Nainital, pp 73-78.
- KAMIYA, K., HARADA, K., TACHIDA, H. AND ASHTON P.S. (2005). Phylogeny of PgiC gene in *Shorea* and its closely related genera (Dipterocarpaceae) the dominant tree in south east Asian tropical rain forests. *Am. J. Bot.*, 92:775-788.
- KAR, P.K., VIJAYAN, K., MOHANDAS, T.P., NAIR, C.V., SARATCHANDRA, B. AND THANGAVELU, K. (2005). Genetic variability and genetic structure of wild and semi-domestic populations of tasar silkworm (*Antheraea mylitta*) ecorace Daba as revealed through ISSR markers. *Genetica*, 125:173-183.
- NISHI, KUMARI, JAISWAL, UMA AND JAISWAL, V.S. (1998). Introduction of somatic embryogenesis and plants regeneration from leaf callus at *Terminalia arjuna* Bedd. *Curr. Sci.*, 75 (10.25): 1052-1085.
- PITHER, R., SHORE, J.S. AND KELLMAN, M. (2003). Genetic diversity of the tropical tree *Terminalia amazonia* (Combretaceae) in a naturally fragmented population. *Heredity*, 91(3):307-13.

- PRASAD, M. D. AND NAGRAJU, J. (2003). A comparative phylogenetic analysis of full length mariner elements isolated from the Indian tasar silk moth *Antheraea mylitta* (Lepidopteran : Saturniidae). *J. Biosci.*, 28: 443-453.
- PRASAD, M.D., NUMINSKY, D.L AND NAGRAJ, J. (2002). Characterization and Molecular Phylogenetic analysis of mariner elements from wild and domesticated species of wild silk moth. 25: 210-218.
- QANUNGO, K.R, KUNDU, S.C., MULLINS, J. AND GHOSH, A.K. (2002). Molecular cloning and characterization of *Antheraea mylitta* cytoplasmic polyhedrosis virus genome segment 9. *J. Gen. Viro.*, 83: 1483-1491.
- QANUNGO, K.R, KUNDU, S.C. AND GHOSH, A.K. (2000). Characterization of cypoviral isolates from tropical and temperate Indian saturniid silkworm. *Acta.Virol.*, 44:349-357.
- RAMESH, M., PAVAN, U., SHYAMPRASAD, S., RAO, A.V. AND SADANANDAM, A. (2002). *In vitro* regeneration of plants from mature nodal segments of *Terminalia arjuna* B. *Sericologia*, 42(1): 75-80.
- RAMESH, M., UDATE, PAVAN, VENUGOPALRAO, K. AND SADANANDAM, A. (2005). Micropropagation of *Terminalia bellirica* Roxb.- A sericulture and medicinal plant. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 41(3): 320-323.
- SHYAMKUMAR, B., ANJANEYULU, C. AND GIRI, C., C. (2007). Genetic transformation of *Terminalia chebula* R. and detection of tannin in transformed tissue. *Curr. Sci.*, 92(3): 361-367
- SHYAMKUMAR, B., ANJANEYULU, C. AND GIRI, C., C. (2003). Multiple shoot induction from cotyledonary node explants of *Terminalia chebula* . *Biol. Plant.*, 47: 585-588.
- SINHA-DATTA, U., CHAVLI, V.R.M. AND GHOSH, A.K. (2005). Molecular cloning and characterization of *Antheraea mylitta* cytoplasmic polyhedrosis virus polyhedrin gene and its variant forms. *Biochemical and Biophysical Res. Communication. Science Direct Elsevier*, 332 :710-718
- SUOHEIMO, J., LI, C. AND LUUKKANEN, O. (1999). Isozyme variation of natural population of sal (*Shorea robusta*) in the Terai region, Nepal . *Silvae Genetica*, 48 (3-4):199-203.
- TEWARY, P.K. AND SURYANARAYANA, N. (2007). DNA isolation and RAPD analysis of Tasar food plants (*Terminalia* spp). *Adv. Plant Sci.*, 20 (II) : 319-321
- TEWARY, P.K., SINGH, M.K. and SURYANARAYANA, N. (2007). *In vitro* induction and proliferation of callus of *Shorea robusta* G. (Sal). *Sericologia*, 47(3): 341-343.
- TIRKEY, J., GANGOPADHYAY, A., RAI, S. AND THANGAVELU, K. (2002). *In vitro* genotypic difference in shoot development in *Terminalia* species. *Advances in Sericulture Research* (eds S.B. Dandin and V.P. Gupta). National Conference a strategies for sericulture research and development at CSR&TI, Mysore, pp. 150-152.
- UJINO, T., KAWAHARA, T., TSUMURA, Y., NAGAMITSU, T., YOSHIMARU, H. AND RATNAM, W. (1998). Development and polymorphism of simple sequence repeat DNA markers for *Shorea curtisii* and other Dipterocarpaceae species. *Heredity*, 81(4): 422-428.
- WARUDE, D., CHAVAN, P., JOSHI, K. AND PATWARDHAN, B., (2003). DNA isolation from fresh and dry plant samples with highly acidic tissue extracts. *Plant Mol. Biol. Reporter*, 21: 467a-467f.

APPLICATION DES OUTILS BIOTECHNOLOGIQUES DANS L'ELEVAGE DU TASAR

P. K. TEWARY*, P. K. KAR, O. P. DUBEY, M. K. SINGH & N. B. VIJAYAPRAKASH

Central Tassar Research and Training Institute, Central Silk Board, Piska Nagri, Ranchi – 835 303, Inde.

*L'élevage du tassar est une industrie à base agricole et forestière des tribus indigènes, qui ont fortement besoin de lignées du ver à soie tassar (*Antheraea mylitta* Drury) et de plantes hôtes (*Terminalia* spp.) à rendement élevé, spécifiques aux saisons et résistantes. Les arsenaux biotechnologiques mis au point par la génomique, la protéomique, la bio-informatique et la transgène renferment les clés pour faciliter la mise au point des produits désirés dans l'élevage du tassar. Cet article présente les derniers outils biotechnologiques et la manière des appliquer. Nous passons en revue de manière complète les travaux de génétique moléculaire réalisés jusqu'à présent chez le ver à soie tassar et sa plante hôte et présentons les stratégies biotechnologiques utilisées appropriées pour résoudre les contraintes de l'élevage du tassar.*

INTRODUCTION

On utilise le ver à soie tassar (*Antheraea mylitta* Drury) commercialement pour la production de soie sauvage *vanya*. L'espèce est de nature polyphage et est distribuée dans un vaste ensemble de conditions géoclimatiques du sous-continent Indien, qui expriment une grande variation des caractères phénotypiques, physiologiques, comportementaux et commerciaux. Comme plusieurs populations d'*A. mylitta* isolées géographiquement habitent de petits territoires, cela favorise l'adaptation aux conditions locales et cela a donc entraîné le développement d'écotypes. Les plantes hôtes primaires du tassar comprennent *Terminalia arjuna* Bedd., *T. tomentosa* W. & A., *Shorea robusta* G., tandis qu'il y a aussi une douzaine de plantes hôtes secondaires, telles que *T. chebula*, *T. bellirica*, *Lagerstroemia* spp., *Anogeissus* spp., etc.. Ces ressources génétiques potentielles sont le matériel idéal à utiliser pour l'amélioration des cultures, la mise au point de lignées résistantes aux maladies et l'introgression de caractères utiles chez les lignées utilisées commercialement. Récemment, les outils biotechnologiques ont été appliqués de manière globale à plusieurs cultures. On peut aussi y avoir recours chez le tassar tropical. Cet article est donc une présentation générale sur les études qui ont été réalisées jusqu'à présent chez le ver à soie tassar et chez ses plantes hôtes pour que les chercheurs en prennent connaissance et puissent travailler sur leurs futurs aspects.

LES ETUDES MOLECULAIRES DANS L'ELEVAGE DU TASAR

LE VER A SOIE TASAR

Aspects phylogénétiques moléculaires :

Sous les aspects de phylogénie moléculaire, un certain nombre d'efforts ont été réalisés pour établir une relation phylogénétique parmi les ramifications évolutionnistes de l'arbre phylogénétique.

* Email : prakash_tewary@rediffmail.com

Prasad et coll., (2002) ont signalé la phylogénie et la structure de divergence des éléments de la famille mariner (MLEs) chez le papillon en rapport avec la phylogénie de l'espèce hôte. Presque tous les MLEs des papillons contiennent des caractères conservés qui sont caractéristiques des MLE, tels que le motif D₁D₂(34)D₃. Sur 33 MLEs partiels séquencés, 31 sont défectueux en raison des codons d'arrêt ou de changements de cadres dans l'ORF de la transposase. C'est aussi le cas avec les trois copies d'éléments complets de la famille mariner isolés chez *A. mylitta*. Leurs résultats indiquent, qu'en général, les relations phylogénétiques entre les MLE de différents papillons obtenus sont semblables à la phylogénie de l'espèce hôte, qui concorde avec le stade vertical de désactivation du cycle de vie des MLE. Il semble probable que la plupart de ces éléments sont présents dans le lignage ancestral avant la divergence de ces espèces et que l'évolution neutre s'est produite indépendamment dans chaque copie, par rapport au codage des acides aminés dans le gène de la transposase. Par exemple, les MLEs des espèces *A. roylei*, *A. pernyi*, *A. proylei*, *A. mylitta* et *A. yamamai* appartiennent clairement au sous-groupe d'éléments étroitement apparentés à la sous-famille *Cecropia*. On considère qu'*A. assama* est différente des autres espèces *Antheraea* et plus proche de l'ancêtre commun d'*Antheraea* et de *Philosamia*. En conséquence, les MLEs d'*A. assama* comprennent un sous-groupe séparé au sein de la sous-famille *cecropia*, avec les MLEs d'espèces probablement apparentées à *A. polyphemus*. Ces résultats impliquent que les MLEs de la sous-famille *Cecropia* existent dans le génome de l'ancêtre commun des espèces *Antheraea* et *Philosamia*.

Prasad et Nagraju (2003) ont signalé que les éléments de la famille mariner (MLEs) sont des transposons de type II largement distribués avec un cadre de lecture ouvert (ORF). On a étudié l'évolution phylogénétique comparative et la conservation des éléments inversés répétés (ITR) des MLEs du papillon saturnidé indien *A. mylitta* avec d'autres MLEs complets. Il a été montré que les MLE de longueur complète sont inactifs avec de multiples mutations. On a identifié de nombreux blocs d'acides aminés conservés après avoir aligné les séquences des transposases. Les séquences de signature mariner sont presque invariables, bien que quelques nouvelles classes d'éléments aient des signatures différentes. Les MLEs d'*A. mylitta* (Anmar) sont phylogénétiquement classés dans la sous-famille *Cecropia* et la superfamille Bombycides.

Hwang et coll., (2004) ont travaillé sur une étude moléculaire comparative entre les Bombycides et les Saturniides d'après les RFLP de l'ADNmt et les séquences du gène I de la cytochrome oxydase. L'implication de l'évolution moléculaire et l'analyse comparative des séquences rapportée montrent qu'elles partagent une identité de séquences de respectivement 9 %, 85 % et 8 % avec *B. mandarina*, *A. yamamai* et *A. pernyi*. *A. yamamai* partage une séquence identique à 92 % avec respectivement *A. yamamai* et *A. pernyi*. Cela indique en tout des limites de confiance et de monophylie de plus de 99 % à la fois pour les Bombycides et les Saturniides.

Aspects de la caractérisation moléculaire :

Dans le cadre de la caractérisation pour établir une relation entre les écoraces ou les lignées mises au point, différents efforts ont été entrepris, en utilisant principalement les marqueurs moléculaires dominants. Chatterjee et coll., (2004) ont essayé la caractérisation moléculaire et travaillé sur le profil ISSR de la variabilité génétique des écotypes Raily d'*A. mylitta* et présenté le polymorphisme de l'ADN démontré par 12 marqueurs ISSR pour 11 populations d'*A. mylitta* appartenant à 6 écotypes et 41 individus des écotypes Raily recueillis dans cinq zones. Cela apporte la preuve moléculaire des différences génétiques entre onze populations d'écotypes et met en évidence les diversifications génotypiques d'un écototype unique en d'autres pools génétiques discrets séparés. L'analyse révèle le regroupement des cinq populations de l'écotype Raily en deux clades. L'analyse a aussi identifié neuf marqueurs que l'on peut utiliser pour caractériser la population spécifique. Dans un lot, on a fait une amplification PCR de 34 éléments du ver à soie tassar en utilisant 13 amorces ISSR (UBC), on a obtenu un ensemble de 274 bandes, dont 259 bandes sont polymorphiques. On observe une variation au sein

et entre les écotypes. L'analyse montre qu'une variation significative existe à l'intérieur d'une population unique.

Kar et coll., (2005) ont étudié la diversité génétique des populations sauvages et semi-domestiques de l'écorace Daba d'*A. mylitta* pour s'assurer de la distribution de la variabilité au sein et entre les populations avec les marqueurs ISSR. Un ensemble de 138 marqueurs est produit au total parmi 56 individus des trois populations, dont 98 % sont polymorphiques. On a aussi évalué les aspects génétiques de la population. On trouve une variabilité considérable au sein et entre les populations chez les trois populations. L'analyse de la structure de la population suggère par ailleurs que les populations semi-domestiques de l'écorace Daba sont sur le point de se différencier. La variabilité génétique élevée présente au sein de la population sauvage Daba d'*A. mylitta* est très importante pour la conservation ainsi que pour l'utilisation dans un programme de lignage systématique.

Ghosh et coll., (2005) ont travaillé sur la caractérisation moléculaire des retrotransposons Tamy à longs segments terminaux à répétitions de type Pao chez le ver à soie saturniidé *Antheraea mylitta* et montré qu'on obtient un rétrotransposon Tamy à longs segments terminaux à répétitions (LTR) en screenant la banque de l'ADN subgénomique d'*Antheraea mylitta* avec des séquences partielles du gène de la fibroïne amplifiées par PCR comme sondes. Tamy a des LTR de 1305 nucléotides à ses extrémités 5' et 3' avec les particularités caractéristiques d'un retrotransposon LTR fonctionnel. Les domaines sont présents dans l'ordre suivant à partir de l'extrémité 5' de la protéase : la transcriptase inverse, l'ARNase et l'intégrase. Le domaine RT chez Tamy présente une homologie élevée avec les éléments rétro transposables de type Pao.

Datta et coll., (2000) ont signalé la purification et la caractérisation du gène de la fibroïne d'*A. mylitta* et ensuite l'expression différentielle de ce gène pendant le stade de développement du ver à soie *A. mylitta*. Qanungo et coll., (2000) ont signalé la caractérisation des isolats cypoviraux du ver à soie saturniidé indien tropical et tempéré. Qanungo et coll., (2002) ont réalisé des études sur le clonage et la caractérisation moléculaires du segment du génome du virus de la polyédrose cytoplasmique (CPV) d'*A. mylitta*. Datta et coll., (2005) ont étudié la caractérisation moléculaire du gène de la polyédrine du CPV d'*A. mylitta* et de ses formes diverses.

Des chercheurs à l'Institut Indien de Technologie de Kharagpur ont rapporté qu'un ensemble de 24 lots d'amorces RAPD donnent 415 bandes reproductibles et on les utilise pour obtenir la matrice de distance et le regroupement consécutif. Sur sept lots d'amorces SCAR, une paire unique d'amorces produit des bandes SCAR polymorphiques qui sont utilisées pour diagnostiquer cinq des dix écoraces. L'hybridation Southern et l'analyse des séquences montrent la nature répétitive du fragment Taq de l'ADN, famille de répétition d'*A. mylitta*, que l'on appelle AmTRF (Ghosh et coll., 2005).

PLANTE HOTES DU TASAR

Etudes de génétique moléculaire :

Tewary et Suryanarayana (2007) ont mis au point un protocole pour l'isolement et la purification de l'ADN génomique des plantes hôtes du ver à soie tasar, *Terminalia tomentosa*, *T. arjuna*, *T. bellerica* et *T. chebula*. Ils ont aussi utilisé ces ADN pour l'amplification PCR en utilisant les amorces décimères aléatoires. Il n'y a pas eu beaucoup d'études réalisées sur les espèces de plantes hôtes primaires, les travaux sur les espèces apparentées sont donc passés en revue. Pither et coll., (2003) ont étudié *Terminalia amazonia* en utilisant l'analyse RAPD. Au total, 30 bandes RAPD ont été générées avec cinq amorces décimères, qui ont été utilisées pour comparer la diversité génétique de six populations dans deux groupes. La variation génétique au sein de la population estimée d'après l'indice de diversité de Shannon est comprise entre 0,32 et 0,38, avec une diversité générale de 0,38. L'analyse de la variance moléculaire révèle que la plupart de la variation est attribuée aux différences entre les individus au sein de la population. La différenciation de la population est significativement

plus faible parmi la population fragmentée que parmi la population de la forêt continue. En moyenne, la population fragmentée a aussi un niveau légèrement plus bas de diversité génétique, mais significatif sur le plan statistique. Un site en forêt-galerie a un niveau plus élevé de diversité génétique que deux des sites forestiers continus. Cela suggère que la fragmentation à long terme de la diversité génétique des arbres tropicaux dépendra de la quantité de couverture forestière locale, dans la proximité de la population fragmentée.

Warude et coll., (2003) ont rapporté une méthode pour obtenir un ADN de qualité et en quantité de plantes telles qu'*Embolica officinal*, *Terminalia belerica*, *T. chebula* qui ont un pH faible et des quantités élevées de métabolites secondaires dans les extraits de tissus. La méthode d'isolement de l'ADN modifié donne un ADN de bonne qualité au poids moléculaire élevé, qui est exempt de contaminants et de pigments colorés et est adapté à une amplification PCR et également adapté pour isoler l'ADN à partir de poudre sèche.

On a beaucoup étudié la variation des isozymes au sein et entre les populations chez de nombreuses plantes ligneuses y compris chez les espèces tropicales. Une corrélation significative entre l'isozyme et les caractères quantitatifs est évidente. Suoheimo et coll., (1999) ont signalé une diversité génétique basée sur les isoenzymes dans la population naturelle de *Shorea robusta*, en utilisant 12 loci de 8 systèmes isozymes. Le nombre moyen d'allèles par locus est de 2,16 et 58,3 % des loci sont polymorphiques.

Kamiya et coll., (2005) ont rapporté la phylogénie du gène PgiC chez *Shorea* et les genres étroitement apparentés (diptérocarpacées), les arbres dominants dans la forêt tropicale humide de l'Asie du sud-est et précisé que les séquences générées dans l'arbre génétique avaient une meilleure résolution que les arbres ADNcp précédents. L'arbre PgiC est surtout conforme aux arbres de l'ADNcp sauf pour le placement de *Neobalanocarpus*. Ujino et coll., (1998) ont rapporté le développement et le polymorphisme de marqueurs ADN simples de séquences répétées pour *Shorea curtissi* et d'autres diptérocarpacées. Quatre marqueurs SSR, She01, She04, She07, She09 se sont avérés très polymorphiques.

Etudes de cultures des tissus :

Il n'existe pas beaucoup de rapports sur la culture de tissus chez les plantes hôtes du tassar, sauf quelques essais sporadiques. Nishi et coll., (1998) ont induit un cal à partir d'explants de feuille de *Terminalia arjuna* sur un milieu MS additionné avec du 2,4-D (5,0 mg / l) et de la Kinétine (0,01 mg / l). On a réalisé l'embryogenèse somatique à partir de la culture de cal et on a rapporté la régénération de la plante sur un milieu MS fortifié avec du saccharose à 2 % et gélifié avec 0,8 % d'agar. Tirkey et coll., (2002) ont étudié l'effet d'antioxydants et d'absorbants sur le métabolisme du brunissement des tissus chez *Terminalia arjuna*. On contrôle l'exsudation phénolique dans les cultures d'explants en ajoutant de l'acide citrique (10,0 mg / l), du PVP (50,0- 150,0 mg / l) et de l'acide ascorbique (50 à 100 mg / l) au milieu. On a aussi étudié les différences génétiques en réponse à l'induction de pousses de variétés de *Terminalia arjuna in vitro*. Sur cinq génotypes testés, B2 répond au maximum pour le pourcentage de bourgeonnement et pour la croissance des pousses sur du milieu MS additionné avec du BAP (0,5 mg / l), de la Kn (2,0 mg / l) et du NAA (0,1 mg / l).

Ramesh et coll., (2002) ont rapporté une induction et une prolifération de pousses à partir d'explants nodaux de l'arbre mûr de *Terminalia arjuna* sur du milieu MS fortifié avec du TDZ (0,05 mg / l). La performance du TDZ par comparaison au BAP et à la Kinétine s'avère bien meilleure. On obtient une rhizogenèse sur des demi milieux MS ou B5 additionnés avec de l'IBA (1,0– 4,0 mg / l). On installe les plantules régénérées dans une serre.

Ramesh et coll., (2005) ont mis au point un protocole de micromultiplication à partir d'explants nodaux de plantules de *Terminalia bellerica*, en cultivant les explants sur du milieu MS additionné avec 13,3 µM de BAP. Par la suite, des pousses *in vitro* ont été multipliées sur du milieu MS, avec une concentration plus faible de BAP, c'est-à-dire 4,4 µM. On observe un racinement dans des

conditions *in vitro* sur du milieu B5 modifié ou sur un milieu pour plante ligneuse fortifié avec $4,9 \mu\text{M}$ d'IBA. Shyamkumar et coll., (2003) ont mis au point un protocole de multiplication *in vitro* pour *T. chebula*. On a induit des pousses multiples à partir d'explants nodaux de cotylédon sur des 1/2 milieux MS additionnés avec $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ GA3 + $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$ IBA + $10,0 \text{ mg dm}^{-3}$ BAP. Anjaneyulu et coll., (2004) ont réussi l'embryogenèse somatique dans les cultures de cal de *T. chebula*, en exploitant les explants de jeunes plants (cotylédon, hypocotyle, etc...). Les cultures d'embryons somatiques ouvrent des perspectives pour la transformation génétique d'espèces d'arbres aussi importantes. Shyamkumar et coll., (2007) ont aussi étudié la transformation génétique de *T. chebula*, via la souche C-58 d'*Agrobacterium tumefaciens*. On a trouvé que les explants de cotylédons répondent à la transformation et on a observé la détection de nopaline dans le cal transformé, ce qui indique la présence d'acide tannique dans le tissu.

Jain et coll., (2002) ont rapporté la multiplication *in vitro* de la pousse de *Shorea robusta* G. sur des milieux MS additionnés avec différents régulateurs de croissance. On a réussi la rhizogenèse à partir de l'extrémité coupée de pousses obtenues *in vitro*. Tewary et coll., (2007) ont rapporté l'induction et la prolifération de cals à partir d'explants de feuilles de *Shorea robusta* sur des milieux MS additionnés avec 2,4-D + Kn et étudié le taux de prolifération des cals.

FUTURES APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES

Dans la perspective des contraintes et des potentiels de l'élevage du tasar où les producteurs de soie tasar sont des tribus indigènes pauvres, qui ne sont ni financièrement ni intellectuellement équipés pour appliquer les technologies, il faut leur fournir des plantes hôtes et des lignées de ver à soie à rendement élevé et résistantes toutes prêtes, qui peuvent supporter les conditions hostiles, avec le moins d'application d'intrants possible. Grâce à la biotechnologie, on peut anticiper des améliorations significatives.

Les outils et les techniques utilisés pour l'amélioration des cultures chez de nombreuses ressources génétiques de plantes et d'animaux, importantes sur le plan économique, sont adaptés au ver à soie tasar ainsi qu'à ses plantes hôtes. Ils comprennent l'analyse du génome, l'identification des QTLs, la mise au point de variétés / de lignées / de races résistant / tolérant les maladies et le stress, en essayant de manipuler la régulation et l'expression d'un gène ou de l'ensemble des gènes désirés et l'interaction plante hôte-insecte. Les plantes hôtes et les vers à soie transgéniques pourraient aussi être l'une des futures possibilités pour de nouvelles perspectives dans l'élevage du tasar.

ROLE OF HAEMOLYMPH CATIONS IN HIGH TEMPERATURE TOLERANCE IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

FIRDOSE AHMAD MALIK & Y. SRINIVASA REDDY*

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

The cationic composition of haemolymph was studied at different stages of larval and pupal development in the mulberry silkworm, *Bombyx mori*. The silkworm is normally reared at 25°C and 70±5 % RH, and 32°C and 36°C constitute temperature stress conditions for the domesticated silkworm. The haemolymph cation levels showed significant changes during different stages of larval development like moult, post-moult, feeding and spinning, and pupal stages like prepupa, pupa and pharate adult, in normal and temperature stress conditions. The haemolymph cation levels in larvae appear to be regulated by controlled excretion of the cations as an inverse relationship was observed in the cation levels of the haemolymph and silkworm excreta. A rise in haemolymph cations was observed at pupal stage in normal and temperature treated batches. When larvae were exposed to higher temperatures, monovalent cations like Na⁺ and K⁺ are hyper-regulated and divalent cations like Ca²⁺ and Mg²⁺ are hypo-regulated in order to prevent abnormal rise in the levels of haemolymph osmotic pressure. The lower levels of divalent cations in both haemolymph and excreta in larva and in pupal haemolymph at higher temperatures suggest that the divalent cations are sequestered by intracellular fluids to prevent osmotic desiccation of somatic cells at higher temperatures.

Keywords: Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ concentration, *Bombyx mori*, Mulberry leaf, Haemolymph, Temperature stress

INTRODUCTION

Haemolymph is the only extra cellular fluid circulated throughout the body (Florkin and Jeuniaux, 1974), and is in continuous contact with all the cells of the insect body. Maintenance of appropriate hydromineral composition is essential for normal development, growth and reproduction (Pannabecker *et al.*, 1992). The relative concentration of inorganic cations depends on the phylogenetic position of the insect group, higher K⁺ and Mg²⁺ in haemolymph plasma being present in more evolved groups (Pelletier and Clark, 1995). The organic molecules like amino acids are the main osmolar effectors in Lepidoptera which have very low Na⁺ index and high K⁺ and Mg²⁺ indices (Duchateau *et al.*, 1953). The cations which contribute largely to ionic equilibrium in haemolymph plasma are Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ which together with citrate contribute to 14% osmotic potential of haemolymph in a homopteran aphid, *Microsiphum albifrons* (Pelletier and Clark, 1995). The levels of organic and inorganic electrolytes of insect haemolymph plasma change in response to diet and disease development and temperature stress (Mullins, 1985). Most insect species regulate haemolymph osmotic concentration during desiccation (Edney, 1971; Hadley, 1986; Edwards, 1982). One component of haemolymph osmoregulation in terrestrial insects during water loss is the removal

* Correspondence to: Prof Y. Srinivasa Reddy, # 233, Vijayanagara III Stage, D Block, II Main, Mysore, Karnataka, India 570 017. E-mail: yrsr_yre@yahoo.com

of inorganic ions, principally Na^+ , Cl^- and to a lesser extent, K^+ , which are either permanently excreted or transported to and sequestered within the tissues (Folk and Bradley, 2003). Although some insects have been shown to use excretory osmoregulation, use of this strategy has been shown for only a small number of species (Liard and Winston, 1975; Albaghdadi, 1987).

Terrestrial insects are confronted with the problem of maintaining fluid and ionic composition of haemolymph plasma at levels best suited for the digestion and absorption of nutrients from the midgut and also to assist various physiological activities at different stages in their life cycle. The problem is compounded in monophagous insects which have to depend only on the leaf for their water and nutrient requirements. The mulberry leaf is the only source of water and electrolytes in a monophagous insect like the silkworm, *Bombyx mori*. The silkworm in the 5th instar is fed with coarse mulberry leaf which contains relatively less water and electrolytes than tender and medium leaves offered to larvae of I-III instars. The ionic composition of the insect haemolymph is patterned after the mineral composition of the leaf of the host plant (Florkin and Jeuniaux, 1974). Ito, (1978) observed that 28% of larval structures at different stages include absorbed minerals. K^+ and Mg^{2+} levels tend to be higher in the haemolymph of leaf eating caterpillars of lepidopterous insects reflecting the levels of the elements in plant tissues (Chapman, 1998). The ionic composition of haemolymph is maintained by balancing absorption of minerals through the midgut epithelium and excretion through Malpighian tubule. The operation of the homeostatic control mechanism of haemolymph cation composition is constrained in non-feeding stages of the insect life cycle like moulting and metamorphosis due to restricted absorption of cations through the midgut epithelium. The excretion of ions is severely impaired during pupal stage due to retrogression of excretory system in pupa. Insects undergo considerable haemolymph volume changes at different stages of larval and pupal development (Harvey *et al.*, 1975) and upon exposure to higher temperature, and changes in cationic composition during such changes have not been investigated in the mulberry silkworm, *Bombyx mori*. It is therefore important to know the mineral composition of the mulberry leaf and its influence on the cationic composition of the haemocoelic fluid during feeding and non-feeding stages in normal and imposed temperature stress conditions.

MATERIALS AND METHODS

Animal:

Pure Mysore, a tropical multivoltine silkworm race was utilized in the present investigation. Disease free layings (DFLs) of the race were brushed and reared as per the standard rearing technique of Dandin *et al.*, (2003). Fresh mulberry leaves of M-5 variety were used for feeding the larvae.

Temperature treatments:

The optimum temperature recommended for rearing 5th instar larvae is $25 \pm 1^\circ\text{C}$ in all seasons. But the ambient temperatures in tropical countries range from $30-35^\circ\text{C}$ in summer season and hence 32°C and 36°C were selected for high temperature treatment. The larvae were transferred one day before 4th moult into the chambers with three temperature zones viz., $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (control), 32°C and 36°C controlled with different thermostats. The relative humidity (RH) was held constant at $70 \pm 5\%$ at all the three temperatures.

Haemolymph collection:

Haemolymph was collected in a pre-chilled test tube containing a few crystals of thiourea by cutting the first proleg of larva. The haemolymph was collected from the 4th moult, post moult, feeding and spinning larvae of control and temperature treated batches, and centrifuged at 3000g for 10 min at 4°C . The supernatants were used in the cation estimations.

The cocoons were cut open on 3rd day after spinning and naked pupae were held in temperature regimes as above. Haemolymph from pupae was obtained by piercing a sharp sterilized syringe needle into the first abdominal segment and applying gentle pressure on the thorax and abdomen. Haemolymph cations were estimated in male and female pupae in both control and temperature treated batches.

Estimation of cations:

10ml of diacid 9:4 (nitric acid and perchloric acid) was added to 1ml of haemolymph. Similarly, known quantity of dried mulberry leaf powder and excreta were digested using digestion chamber (Digester 1009) until a clear solution was obtained. The solution was then cooled and the volume was made upto 20ml with double distilled water. The solution was filtered through Whatman No.1 filter paper and filtrates were used in cation determinations. Sodium and potassium ions were estimated by using Flame photometer (Elicol CL 360) while calcium and magnesium ions were estimated by using atomic absorption spectrophotometer (GBC 932 Plus).

Statistical analysis:

Analysis of variance was used to test the significance of differences between the mean values of six independent observations of Na^+ , K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} levels in the haemolymph of silkworm larvae and pupae. Tukey's (1953) multiple comparison tests were used to find significance of differences between the treatments and different developmental stages. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

RESULTS

Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations in the haemolymph showed significant changes, at different stages of larval development & pupa, and in response to higher ambient temperatures (Fig.1-6).

Haemolymph sodium concentration:

Na^+ levels in larval haemolymph were relatively low during 4th moult and dropped further in the post moult larvae before the first feeding (Fig. 1A). Haemolymph Na^+ increased significantly during active feeding period to drop again in spinning larvae. Higher temperature increased haemolymph Na^+ in feeding larvae and the increases were higher at 36°C than at 32°C.

Haemolymph Na^+ of pupae was less than in spinning larvae (Fig.5) and showed higher increase at 36°C than at 32°C.

Haemolymph potassium concentration:

Haemolymph K^+ levels of 5th instar larvae were relatively higher than Na^+ levels (Fig.2A). K^+ levels were relatively low during moult and showed further decrease in post moult larvae but followed by day wise increments in feeding larvae to drop again in spinning larvae. K^+ levels also showed an increase at higher temperatures and the relative increases observed were higher at 36°C than at 32°C. Haemolymph K^+ levels were relatively higher in female pupae than male pupae and showed a significant decrease during pharate-adult development stage in both sexes (Fig.5). Haemolymph K^+ levels were relatively unaffected upon exposure of pupae to higher temperature.

Haemolymph calcium concentration:

Haemolymph Ca^{2+} showed a significant drop in post moult larvae (Fig.3A) but showed a significant rise in feeding larvae to drop again in spinning larvae. At higher temperature, haemolymph Ca^{2+} levels showed more decrease at 36°C than at 32°C.

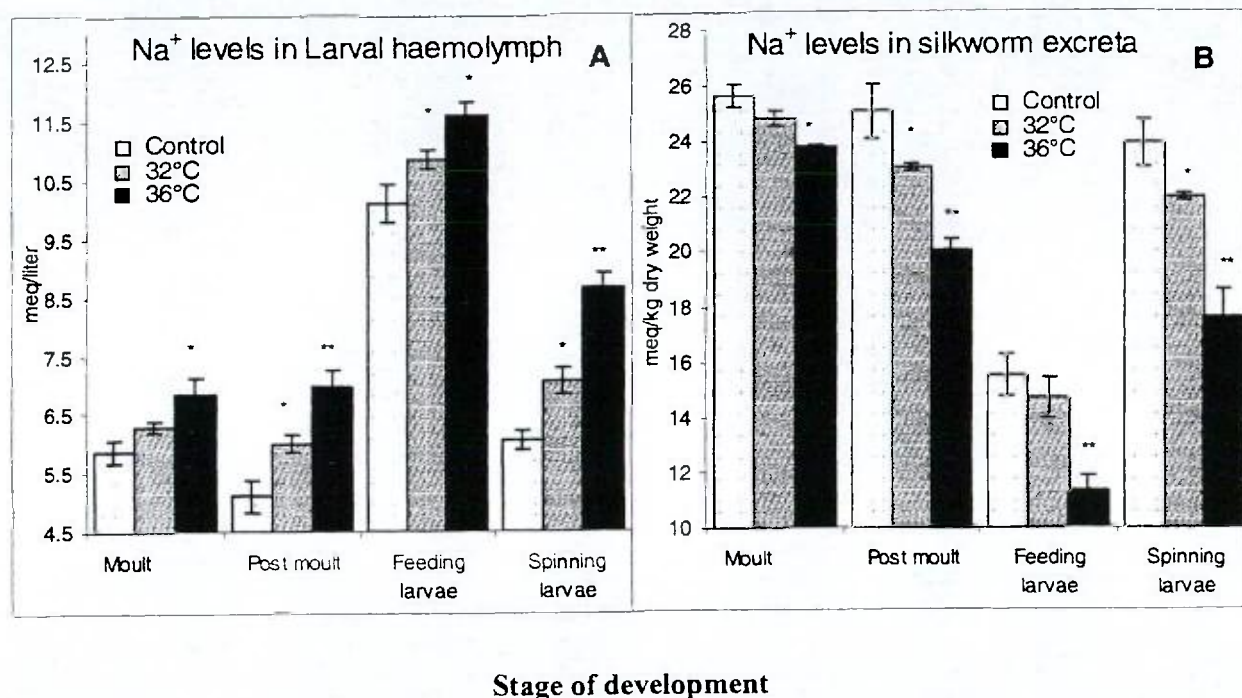


Fig. 1. Sodium levels in the larval haemolymph and silkworm excreta of the silkworm, *Bombyx mori*, reared at 25° C (control), 32° C and 36° C. Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* P < 0.05; ** P < 0.01).

Fig. 1. Niveaux de sodium dans l'hémolymph de la larve et dans les excréments du ver à soie *Bombyx mori* élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C. Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (*P < 0,05 ; ** P < 0,01).

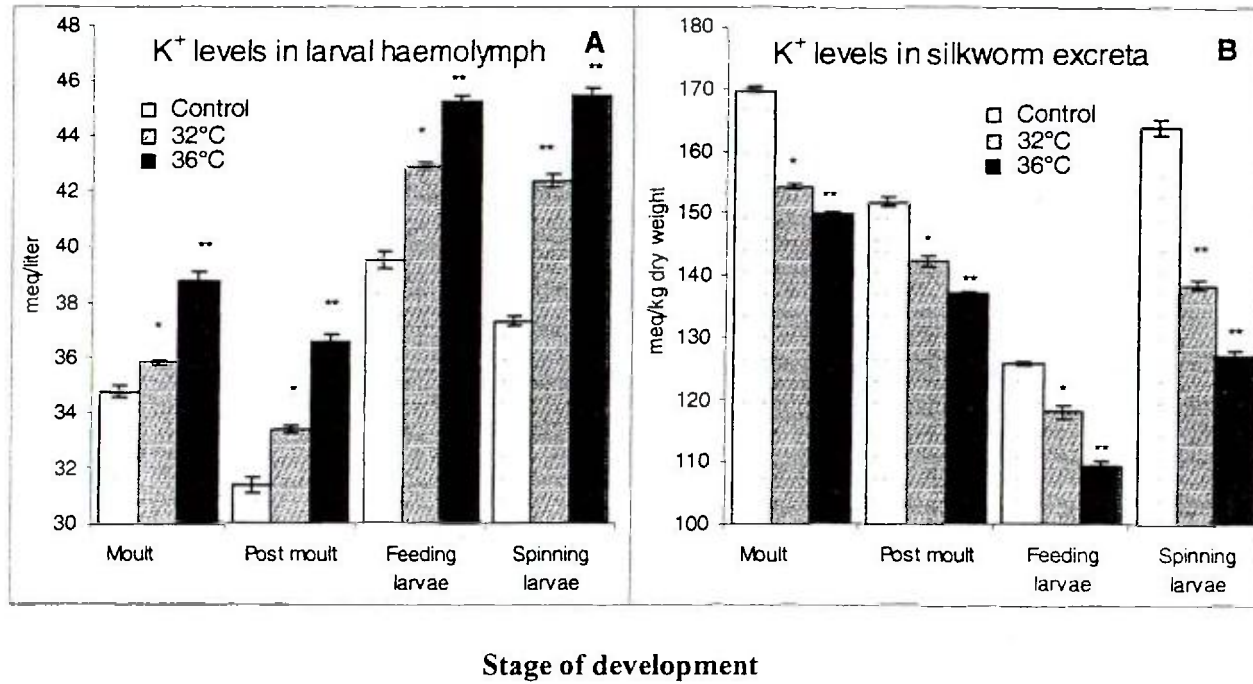


Fig. 2. Potassium levels in the larval haemolymph and silkworm excreta of the silkworm, *Bombyx mori* reared at 25° C (control), 32° C and 36° C. Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

Fig. 2. Niveaux de potassium dans l'hémolymph de la larve et dans les excréments du ver à soie *Bombyx mori* élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C. Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

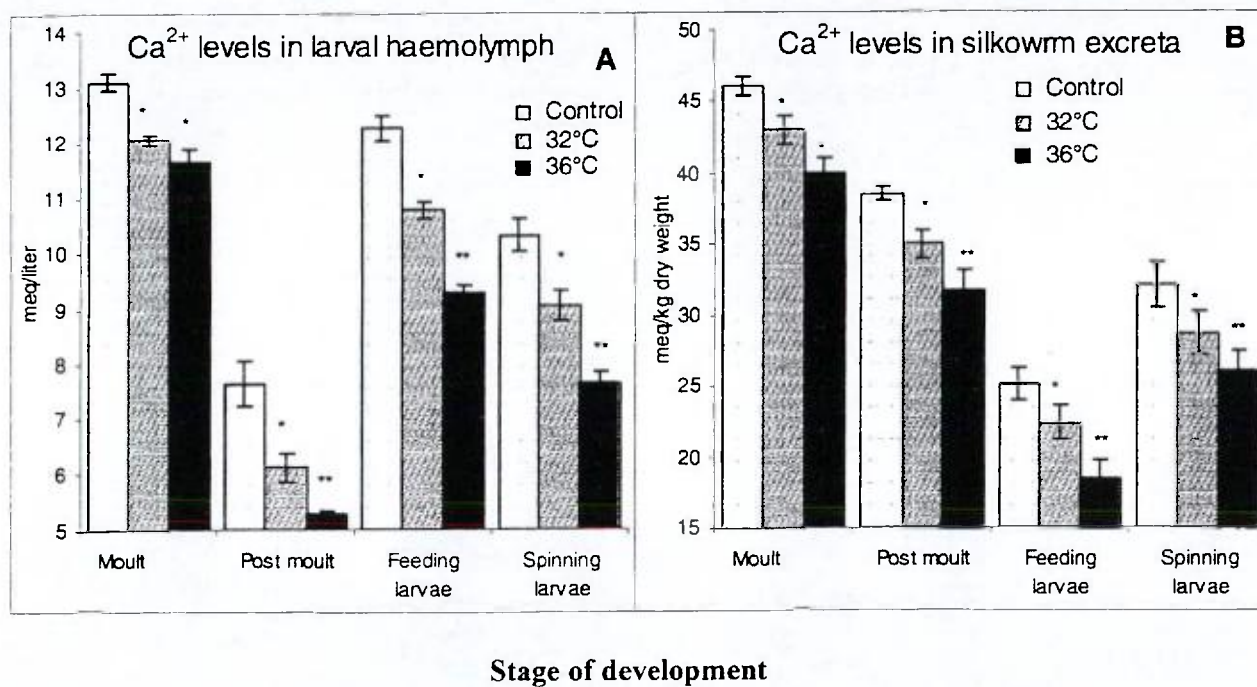


Fig. 3 . Calcium levels in the larval haemolymph and silkworm excreta of the silkworm, *Bombyx mori* reared at 25° C (control), 32° C and 36° C. Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

Fig. 3. Niveaux de calcium dans l'hémolymph de la larve et dans les excréments du ver à soie *Bombyx mori* élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C. Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

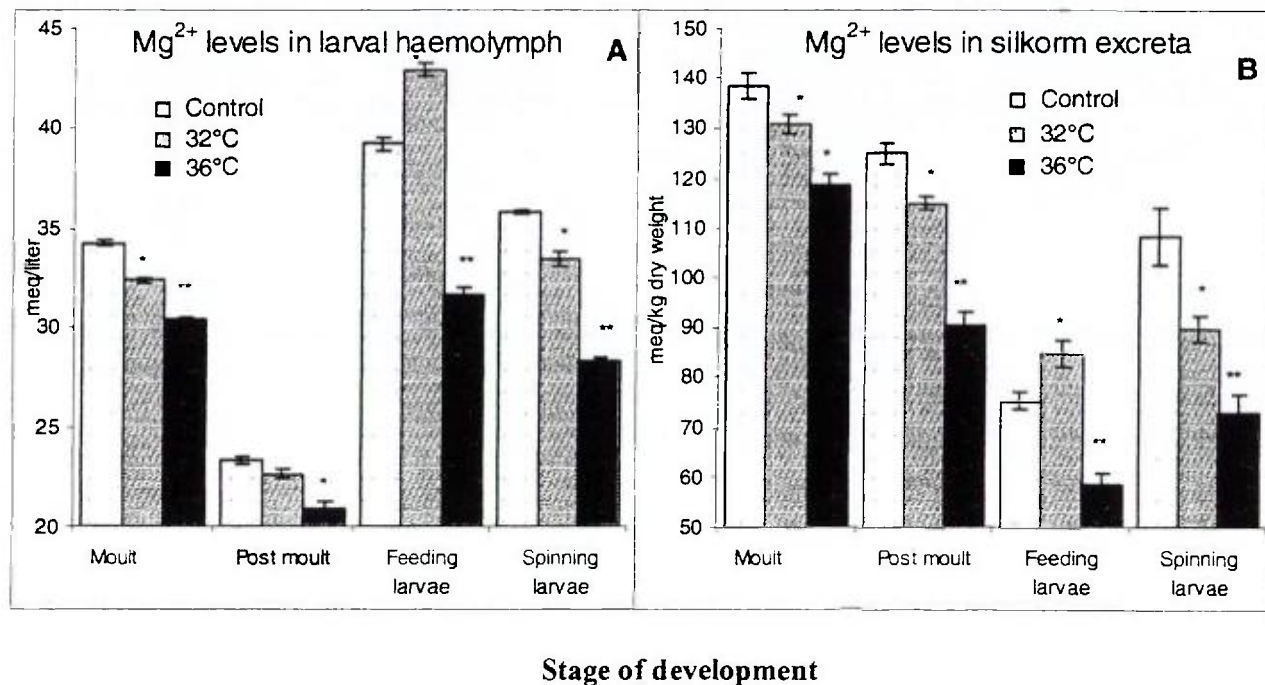


Fig. 4. Magnesium levels in the larval haemolymph and silkworm excreta of the silkworm, *Bombyx mori* reared at 25° C (control), 32° C and 36° C.

Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

Fig. 4. Niveaux de magnésium dans l'hémolymph de la larve et dans les excréments du ver à soie *Bombyx mori* élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C.

Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

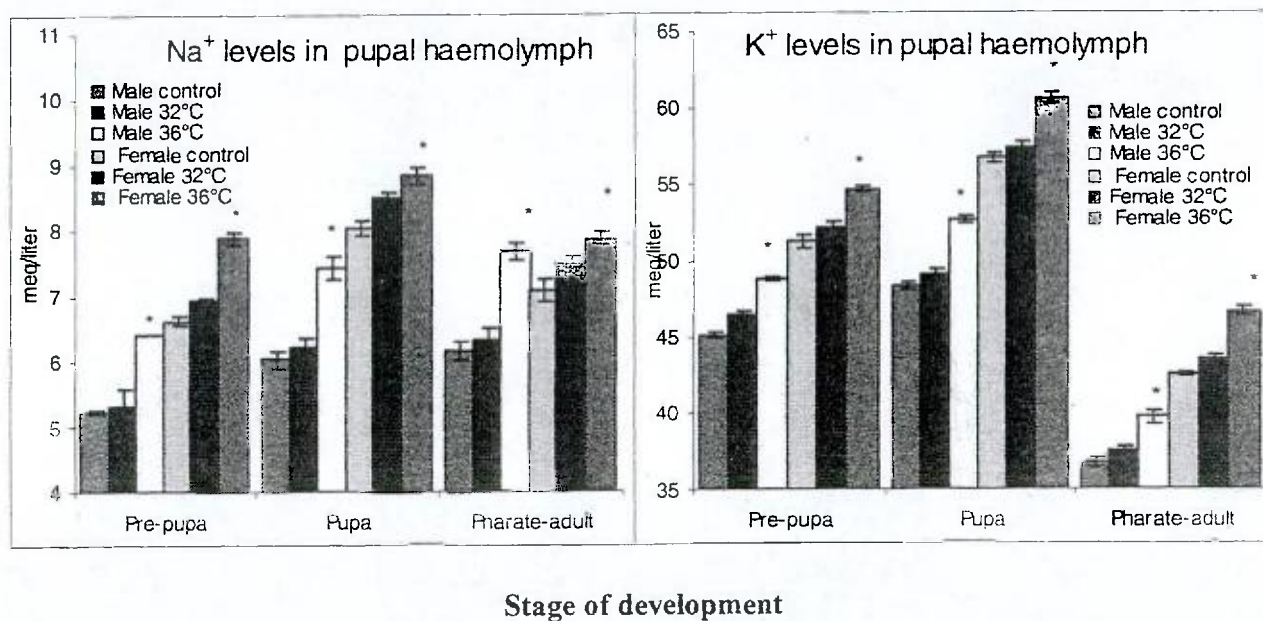


Fig. 5. Sodium and potassium levels in the pupal haemolymph of the silkworm reared at 25° C (control), 32° C and 36° C.

Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* P < 0.05; ** P < 0.01).

Fig. 5. Niveaux de sodium et de potassium dans l'hémolymph de la chrysalide du ver à soie élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C.

Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (*P < 0,05 ; ** P < 0,01).

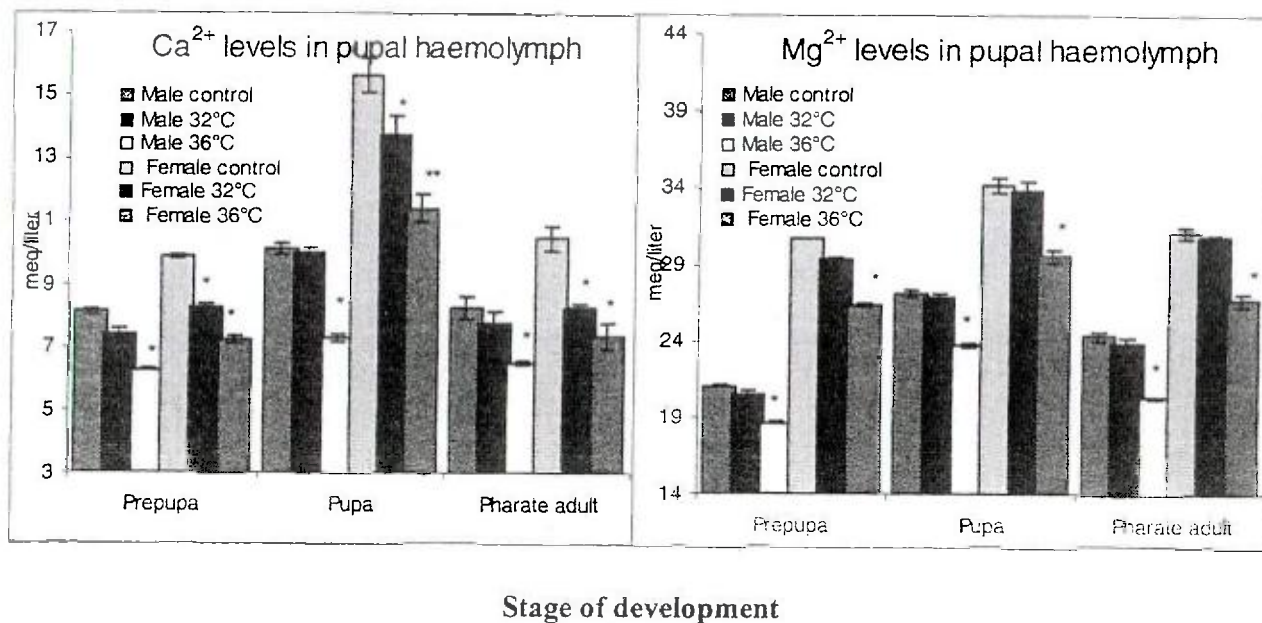


Fig. 6. Calcium and magnesium levels in the pupal haemolymph of the silkworm reared at 25° C (control), 32° C and 36° C.

Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / litre or meq / kg dry weight) (* P < 0.05; ** P < 0.01).

Fig. 6. Niveaux de calcium et de magnésium dans l'hémolymph de la chrysalide du ver à soie élevé à 25° C (témoin), 32° C et 36° C.

Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées. (On exprime les valeurs en meq / litre ou meq / kg de poids sec). (*P < 0,05 ; ** P < 0,01).

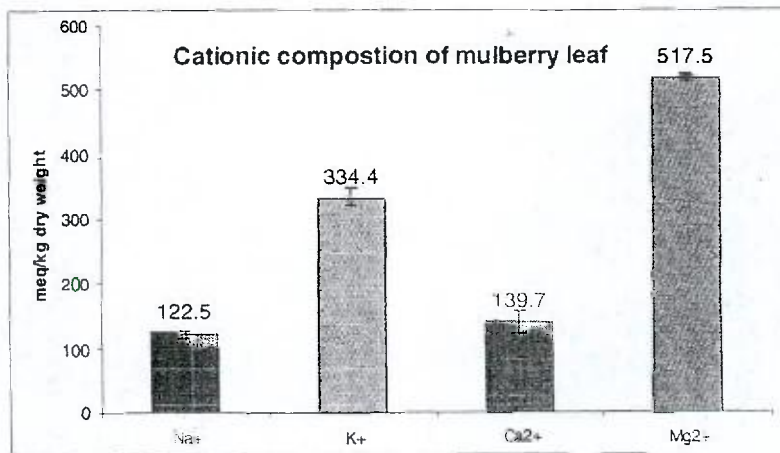


Fig. 7. Cationic composition in the leaves of M-5 mulberry variety.
Each value is the mean $\pm$ SD of 6 separate observations. (Values expressed as meq / kg dry weight).

Fig. 7. Composition cationique des feuilles de la variété de mûrier M-5.
Chaque valeur est la moyenne $\pm$ l'écart type de 6 observations séparées.
(Les valeurs sont exprimées en meq / kg de poids sec).

Haemolymph Ca^{2+} concentration was relatively more in female than male pupae (Fig.6) and fluctuated more during development in female than male pupae.

Haemolymph Magnesium concentration:

Haemolymph Mg^{2+} , relatively low in post moult larvae, showed a consistent increase in feeding larvae (Fig.4A) but dropped significantly in spinning larvae. Haemolymph Mg^{2+} concentrations showed more decrease at 36°C than at 32°C .

Haemolymph Mg^{2+} of pre-pupae showed a significant drop from that of spinning larvae. Haemolymph Mg^{2+} levels improved in pupa and again dropped during pharate-adult development stage. Haemolymph Mg^{2+} concentration was relatively higher in female pupae than male pupae. The levels of haemolymph Mg^{2+} decreased in all stages of pupal development more significantly at 36°C than at 32°C (Fig.6).

Cation levels in silkworm excreta:

Cations were excreted in the order of $\text{K}^{+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^{+}$ (Figs.1B-4B). Cation elimination through excreta was relatively more in moulting, post moult and spinning larvae. The feeding larvae, on the other hand, excreted relatively lower levels of all the cations. At higher temperatures, the levels of Na^{+} , K^{+} , Ca^{2+} and Mg^{2+} in silkworm excreta were relatively less than in control and the decreases noticed were relatively more at 36°C than at 32°C .

Cation composition of mulberry leaf:

Cation concentration in mulberry leaf is expressed in meq/kg dry weight (Fig.7). Each value is the mean of eighteen independent observations. Mg^{2+} (517.5) concentration in the mulberry leaf was relatively high followed by K^+ (334.5), Ca^{2+} (139.7) and Na^+ (122.5).

DISCUSSION

Cationic composition of insect haemolymph has been extensively studied in all the insect orders but data on different developmental stages in an insect species are not available (Florkin and Jeuniaux, 1974). Cation composition of the haemolymph in *Bombyx mori* was similar to that of the mulberry leaf (Figs.1-4 &7). Diet, temperature and disease influence haemolymph cationic composition of an insect species (Mullins, 1985). The silkworm haemolymph plasma is characterized by low Na^+ and very high K^+ and Mg^{2+} concentrations and moderately high Ca^{2+} like the mulberry leaf. The inorganic cations contribute to a fifth (20.4%) of the total osmotic pressure of the haemolymph and are balanced only partially by anions like chlorides (7.4%), bicarbonates (3.6%) and labile phosphate (0.7%) in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Jungreis, 1978). Weevers (1966) reported similar haemolymph ionic composition in the Tasar silkworm, *Anthaeraea mylitta*. Haemolymph cationic composition showed significant changes at the five physiologically distinct stages of growth and development viz., moult, post moult, feeding, spinning and pupal stages. The haemolymph cation concentration was higher during moult than post moult. An increase in haemolymph cation concentration was observed during IV moult in the larvae of the giant silk moth, *Hyalophora cecropia* (Harvey *et al.*, 1975). The drop in the cationic levels from moult to post moult stage can be attributed to swift changes occurring in the fluid levels of haemolymph during moult cycle. Ziegler *et al.*, (2000) observed that the sudden increase in the haemolymph volume between late premoult and intramoult served to expand the cuticle during moult in the isopod, *Ligia pallasii*. The cations are present at relatively high concentration during feeding stage and appear to be determined by relative rates of their absorption from the midgut lumen and excretion through the Malpighian tubule. The rates of absorption and excretion of cations depended on their participation in functional homeostasis of silkworm and their concentration in the mulberry leaf. Mg^{2+} and K^+ were present at a relatively higher levels followed by Ca^{2+} and Na^+ both in the leaf and larval haemolymph. But, in feeding larvae K^+ was excreted in significantly higher quantities than Mg^{2+} presumably to prevent Na^+/K^+ ratio dropping too low as lower Na^+ concentration severely impairs neural function. Also, lower excretory elimination of Na^+ and thus higher retention rates of it in the haemolymph serves favourably to defend Na^+/K^+ ratio. A negative correlation was noted in the cation concentrations of the haemolymph and silkworm excreta. The haemolymph cation levels are held by controlled excretion through Malpighian tubules (Figs.1B-4B). Na^+ levels in excreta of feeding larva were the least and K^+ levels were the highest. The rates of elimination of cations are least during feeding stage than during non feeding stages resulting in higher haemolymph cation levels during feeding stage. Despite increased feeding activity during active growth period, the cation levels were lower in silkworm excreta on account of their facilitated absorption during growth phase. The haemolymph cation levels in spinning stage were brought to the levels existing in pre-feeding stages like moult and post moult by increased rates of excretory elimination of haemolymph cations (Figs.1B-4B). The higher cation excretion in spinning larvae than in feeding larvae caused a drop in haemolymph cationic levels. The spinning larvae shrink in size and store large quantities of amorphous silk in the lumen of the silk gland. The immediate and proximate source of water for silk biosynthesis is haemolymph and the consequent volume reduction of haemolymph required elimination of cations to maintain the osmotic pressure. The haemolymph cation concentration was held relatively high in the non-feeding pupal stage due to impaired excretory function. A significant increase in haemolymph Na^+ and K^+ concentration due to the breakdown of salivary gland and initiation of vitellogenesis was observed during pupal apolysis

to pharate adult development in the midgut, *Chironomus thummi* (Schin and Moore, 1977). Higher haemolymph cations were observed in female pupae of *Bombyx mori* as vitellogenesis is active in pupal stage of development in silkworm. The quantity of ingested leaf was higher in female larvae as they have to provide nutritive resources for the moth to lay 500-600 viable eggs. Sex separation is difficult at the larval stage of development in the mulberry silkworm, *Bombyx mori* and hence consumption indices in male and female larvae were not determined. An increase in haemolymph Mg^{2+} due to volume reduction was observed during pupation in the giant silk moth, *Hyalophora cecropia* (Harvey *et al.*, 1975). K^+ levels among the cations showed a significant increase in pupal haemolymph in the present experiment.

When larval stages were exposed to higher temperature, monovalent cations like Na^+ and K^+ increased whereas divalent cations like Ca^{2+} and Mg^{2+} decreased, the per cent changes observed being more at $36^\circ C$ than at $32^\circ C$. The haemolymph monovalent cations were hyper-regulated at higher temperature. The haemolymph and excreta levels of monovalent cations showed an inverse relationship suggesting regulation of their levels in haemolymph by controlled excretion. But, the haemolymph divalent cations were lower at higher temperatures despite lower rates of their excretion suggesting their transportation to inter and intracellular fluids as a protection against osmotic desiccation at higher temperatures. Such bidirectional movement of cations between haemolymph and epidermis has been reported during moult cycle in *Scylla serrata* (Pratoomchat *et al.*, 2002). Cations like Na^+ , K^+ and Ca^{2+} are bound to proteins in *Galleria mellonella* (Plantevin, 1967). The contrasting change in the two kinds of cations and the higher degree of change at $36^\circ C$ than at $32^\circ C$ can be attributed to greater dehydration stress at higher temperature. No significant sex difference in the haemolymph cationic composition of pupae at higher temperature was observed though female pupae are more temperature sensitive than male pupae (Firdose and Srinivasa Reddy, 2007). Nicolson (1974) reported volume reduction in haemolymph without any apparent change in the osmotic and ionic concentration when the stick insect, *Carausius morosus* was exposed to prolonged dehydration stress. The selected temperatures could not have caused significant dehydration stress as the pupae are protected by heavily sclerotized and melanized pupal skin. The impaired excretory function in pupa has little role to play in cation regulation, and hence the marginal rise in haemolymph cation levels at higher temperature in the closed system of pupa.

REFERENCES

- ALBAGHDADI, L.F. (1987) Effects of starvation and dehydration on ionic balance in *Schistocerca gregaria*. *J. Insect Physiol.* 33, 269-277.
- CHAPMAN, R.F. (1998) The insects: *Structure and Function*, 4th Ed.; Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom.
- DANDIN, S.B., JAYANT JAYASWAL AND GIRIDHAR, K. (2003) *Handbook of Sericulture Technologies*. Central Silk Board, Bangalore, p 287.
- DUCHATEAU, G., FLORKIN M., AND LECLERCQ, J. (1953) Concentration des bases fixes et types de composition de la base totale de l'hémolymphe des insectes. *Archives Internationales de Physiologie de Biochimie et de Biophysique*, 61(4), 518 – 549.
- EDNEY, E.B. (1971) Some aspects of water balance in Tenebrionid beetles and a thysanuran from the Namib desert of Southern Africa. *Physiol. Zool.* 44, 61-76.
- EDWARDS, H.A. (1982) Ion concentration and activity in the haemolymph of *Ades aegypti* larvae. *J. Exp. Biol.* 101, 143-151.
- FLORKIN, M. AND JENNIAUX, C. (1974) Haemolymph composition. In: *The physiology of Insecta*, 22d ed., (M. Rockstein, ed) Vol. 5., Academic Press, New York. pp.110-148.
- FOLK, D.G. AND BRADLEY, T.J. (2003) Evolved patterns and rates of water loss and ion regulation in laboratory selected populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Exptl. Biol.*, 206, 2779-2786.

- HADLEY, N.F. (1986) Cricket cuticle water relations: permeability and massive determinants of cuticular water content. *Physiol. Zool.* 59, 268-286.
- HARVEY, W. R., JOHN WOOD, L., RICHARD QUATRALE, P. AND ARTHUR JUNGREIS, M. (1975) Cation distributions across the larval and pupal midgut of the lepidopteran, *Hyalophora cecropia*, in vivo. *J. Exptl. Biol.*, 63, 321-330.
- ITO, T. (1978) Silkworm Nutrition. *The Silkworm- an Important Laboratory Tool* (ed. Y. Tazima) Kodamasha Ltd. Tokyo. pp. 121-157.
- LIARD, T.B. AND WINSTON, P.W. (1975) Water and osmotic pressure regulation in the cockroach, *Leucophaea maderae*. *J. Insect Physiol.*, 21, 1055-1060.
- MULLINS, D.E. (1985) Chemistry and Physiology of the haemolymph. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Ed. By G.A Kerkut and L.F. Gilbert, Pergamon press, New York. 3, 355-400.
- NICOLSON, S., HORSFIELD, P.M., GARDINER, B.O.C. AND MADDRELL, S.H.P. (1974) Effects of starvation and dehydration on osmotic and ionic balance in *Carausius morosus*. *J. Insect Physiol.*, 20, 2061-2069.
- PANNABECKER, T.L., ANDREWS, F. & BEYENBACH, K.W. (1992) A quantitative analysis of the osmolites in the haemolymph of the larval gypsy moth, *Lymantria dispar*. *J. Insect Physiol.*, 38, 823-830.
- PELLETIER, Y. AND CLARK, C.L. (1995) Haemolymph plasma composition of the Essigs Lupine Aphid, *Macrosiphum albifrons* Essig (Homoptera: Aphididae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25, 1139-1141.
- PLANTEVIN, G. (1967) Dosage de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} de l'hémolymph de *Galleria mellonella* L. par spectrophotométrie de flamme. *J. Insect Physiol.*, 13, 1907-1920.
- PRATOOMCHAT, B., SAWANGWONG, P., PAKKONG P. AND MACHADO J. (2002) Organic and inorganic compound variations in haemolymph, epidermal tissues and cuticle over the molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). *Comp. Biochem. and Physiol- Part A: Molecular and Integrative Physiology*. 131 (2), 243-255.
- SCHIN, K. AND MOORE, R.D. (1977) Cation concentrations in the haemolymph of the fly *Chironomus thummi*, during development. *J. Insect Physiol.*, 23 (6), 723-729.
- TUKEY, J.W. (1956) *The problem of multiple comparison*. (In Statistical Methods by Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.) Iowa state college press, Ames.
- WEEVERS, G.D.R. (1965) A lepidopteran saline: effects of inorganic cation concentrations on sensory, reflex and motor responses in a herbivorous insect. *J. Exptl. Biol.*, 44, 163-175.
- ZIEGLER, A., GROSPIETSCH, T., CAREFOOT, T.H., DANKO, J.P., ZIMMER, M., ZERBST-BOROFFKA, I. AND PENNINGS, S.C. (2000) Haemolymph ion composition and volume changes in the supralittoral isopod *Ligia pallasii* Brandt, during molt. *J. Comp. Physiol. B*, 170, 329-336.

ROLE DES CATIONS DE L'HEMOLYPHE DANS LA TOLERANCE A LA TEMPERATURE ELEVEE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

FIRDOSE AHMAD MALIK & Y. SRINIVASA REDDY*

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

*On a étudié la composition cationique de l'hémolymphe à différents stades du développement larvaire et nymphal chez le ver à soie du mûrier, **Bombyx mori**. On élève le ver à soie normalement à 25° C et avec 70 % d'HR et 32° C et 36° C constituent des conditions de stress de température pour le ver à soie domestiqué. Les niveaux de cation de l'hémolymphe présentent des changements significatifs pendant différents stades du développement larvaire, comme la mue, la post-mue, l'alimentation et le filage et pendant les stades nymphaux, comme la pré-nymphé, la nymphe et le pré-adulte dans des conditions normales et de stress de température. Les niveaux de cations de l'hémolymphe chez les larves semblent être régulés par l'excrétion contrôlée des cations, puisqu'on observe une relation inversée entre les niveaux de cations de l'hémolymphe et les excréments du ver à soie. On observe une augmentation des cations de l'hémolymphe pendant le stade nymphal chez les lots normaux et traités à la température. Quand les larves sont exposées à des températures plus élevées, les cations monovalents comme Na^+ et K^+ sont hyper régulés et les cations divalents comme Ca^{2+} et Mg^{2+} sont hypo-régulés, de manière à prévenir l'augmentation anormale des niveaux de pression osmotique de l'hémolymphe. Les niveaux plus faibles de cations divalents à la fois dans l'hémolymphe et dans les excréments des larves et dans l'hémolymphe nymphale à des températures plus élevées suggèrent que les fluides intracellulaires entraînent une chélation des cations divalents, pour empêcher le dessèchement osmotique des cellules somatiques à une température plus élevée.*

INTRODUCTION

L'hémolymphe est le seul fluide extracellulaire qui circule dans tout le corps (Florkin et Jeuniaux, 1974) et qui est en contact continu avec toutes les cellules du corps de l'insecte. Le maintien d'une composition hydrominérale appropriée est essentiel pour la normalité du développement, de la croissance et de la reproduction (Pannabecker et coll., 1992). La concentration relative en cations inorganiques dépend de la position phylogénétique du groupe de l'insecte, plus de K^+ et de Mg^{2+} étant présents dans le plasma de l'hémolymphe des groupes les plus évolués (Pelletier et Clark, 1995). Les molécules organiques comme les acides aminés sont les principaux effecteurs osmotiques chez les Lépidoptères, qui ont un indice Na^+ très faible et des indices K^+ et Mg^{2+} élevés (Duchateau et coll., 1953). Les cations qui contribuent dans une grande mesure à l'équilibre ionique dans le plasma de l'hémolymphe sont Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} , qui contribuent au potentiel osmotique de l'hémolymphe à 14 %, avec le citrate, chez un puceron homoptère, *Microsiphum albifrons* (Pelletier et Clark, 1995). Les niveaux d'électrolytes organiques et inorganiques du plasma de l'hémolymphe d'un insecte changent en réponse à l'alimentation et au développement des maladies et au stress de température (Mullins, 1985). La plupart des espèces d'insectes régulent la concentration osmotique

* Auteur auquel adresser la correspondance Prof Y. Srinivasa Reddy, # 233, Vijayanagara III Stage, D Block, II Main, Mysore, Karnataka, India 570 017. E-mail: ysr_yre@yahoo.com

de l'hémolymph pendant le dessèchement (Edney, 1971 ; Hadley, 1986 ; Edwards, 1982). Un des composants de l'osmorégulation de l'hémolymph chez les insectes terrestres pendant la perte d'eau est la séparation des ions inorganiques, principalement du Na^+ et du Cl^- , à un moindre degré, du K^+ , qui sont soit excrétés de manière permanente soit transportés et chélatés dans les tissus (Folk et Bradley, 2003). Bien qu'on ait montré que certains insectes utilisent l'osmorégulation excrétrice, on a montré que cette stratégie n'est utilisée que par un petit nombre d'espèces (Liard et Winston, 1975 ; Albaghdadi, 1987).

Les insectes terrestres sont confrontés au problème de maintien du liquide et de la composition ionique du plasma de l'hémolymph aux niveaux les mieux adaptés à la digestion et à l'absorption des nutriments de l'intestin moyen ainsi que pour assister différentes activités physiologiques pendant différents stades de leur cycle de vie. Le problème est aggravé chez les insectes monophages qui dépendent seulement des feuilles pour leurs besoins en eau et en nutriments. La feuille de mûrier est la seule source d'eau et d'électrolytes chez un insecte monophage comme le ver à soie, *Bombyx mori*. On nourrit le ver à soie du 5^{ème} âge avec des feuilles de mûrier épaisses, qui contiennent relativement moins d'eau et d'électrolytes que les feuilles tendres du milieu données aux larves du 1^{er} au 3^{ème} âge. La composition ionique de l'hémolymph de l'insecte est structurée selon la composition minérale de la feuille de la plante hôte (Florkin et Jeuniaux, 1974). Ito (1978) a observé que 28 % des structures larvaires à différents stades incluent les minéraux absorbés. Les niveaux de K^+ et de Mg^{2+} tendent à être plus importants dans l'hémolymph des chenilles qui mangent des feuilles chez les insectes lépidoptères, ce qui reflète les niveaux de ces éléments dans les tissus des plantes (Chapman, 1998). La composition ionique de l'hémolymph est maintenue par l'équilibre de l'absorption des minéraux dans l'épithélium de l'intestin moyen et par l'excrétion dans les tubes de Malpighi. Le mécanisme de contrôle homéostatique de la composition des cations de l'hémolymph est gêné pendant les stades du cycle de vie de l'insecte sans alimentation, comme la mue et la métamorphose, à cause de la diminution de l'absorption des cations par l'épithélium de l'intestin moyen. L'excrétion des ions diminue beaucoup pendant le stade nymphal à cause de la régression du système excréteur chez la chrysalide. Les insectes subissent des changements considérables du volume de l'hémolymph pendant les différents stades de développement larvaire et nymphal (Harvey et coll., 1975) et lors de l'exposition à une température élevée et on n'a pas étudié les changements de la composition cationique pendant de tels changements chez le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori*. Il est donc important de connaître la composition minérale de la feuille de mûrier et son influence sur la composition cationique du liquide haémocoelique pendant les stades d'alimentation et sans alimentation dans des conditions normales et de stress de température imposées.

MATERIELS ET METHODES

Animal :

Dans cette étude, on utilise Pure Mysore, une race de ver à soie polyvoltine tropicale. On lève et on élève des pontes saines, d'après la technique d'élevage standard de Dandin et coll., (2003). On utilise des feuilles de mûrier fraîches de la variété M-5 pour nourrir les larves.

Traitements de température :

La température optimale recommandée pour l'élevage des larves du 5^{ème} âge est de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ pendant toutes les saisons. Mais, les températures ambiantes dans les pays tropicaux sont comprises entre $30-35^\circ \text{C}$ pendant l'été et on sélectionne donc 32°C et 36°C pour le traitement à température élevée. On transfère les larves un jour avant la 4^{ème} mue dans des étuves avec trois températures, c'est-à-dire $25 \pm 1^\circ \text{C}$ (témoin), 32°C et 36°C , contrôlées avec différents thermostats. On maintient l'humidité relative (RH) constante à $70 \pm 5\%$ avec les trois températures.

Recueil de l'hémolymph :

On recueille l'hémolymph dans un tube à essai pré-réfrigéré contenant quelques cristaux de thiourée en coupant la première patte antérieure de la larve. On recueille l'hémolymph à partir de la 4^{ème} mue, après la mue, chez les larves qui se nourrissent et qui filent chez les lots témoins et chez les lots traités et on la centrifuge à 3000 g pendant 10 min. à 4° C. On utilise les surnageants pour les estimations des cations.

On ouvre les cocons trois jours après le début du filage et on maintient les chrysalides dénudées aux régimes de température présentés plus haut. On obtient l'hémolymph des chrysalides en perçant le premier segment abdominal avec l'aiguille pointue stérilisée d'une seringue et en appliquant une légère pression sur le thorax et l'abdomen. On estime les cations de l'hémolymph des chrysalides mâles et femelles chez les lots témoins et traités par la température.

Estimation des cations :

On ajoute 10 ml de diacide (acide nitrique et acide perchlorique) à 1 ml d'hémolymph. De même, on fait digérer une quantité connue de poudre de feuilles de mûrier sèches et d'excréments en utilisant une cuve de digestion (Digester 1009) jusqu'à ce qu'on obtienne une solution claire. Ensuite, on refroidit la solution et on augmente le volume jusqu'à 20 ml avec de l'eau bi-distillée. Puis, on filtre la solution au travers d'un filtre en papier Whatman no. 1 et on utilise les filtrats pour les déterminations des cations. On estime les ions de sodium et de potassium en utilisant un photomètre Flame (Elicol CI 360), tandis qu'on estime les ions de calcium et de magnésium en utilisant un spectrophotomètre à absorption atomique (GBC 932 Plus).

Analyse statistique :

On utilise l'analyse de variance pour tester la signification des différences entre les valeurs moyennes de six observations indépendantes des niveaux en Na^+ , en K^+ , en Mg^{2+} et en Ca^{2+} dans l'hémolymph des larves et des chrysalides de ver à soie. On utilise les tests de comparaison multiple de Tukey (1953) pour déterminer la signification des différences entre les traitements et les différents stades de développement. On considère les différences significatives à $P < 0,05$.

RESULTATS

Les concentrations en Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} de l'hémolymph présentent des changements significatifs pendant différentes étapes du développement larvaire et nymphal et en réponse à des températures ambiantes plus élevées (Figs. 1 à 6).

Concentration en sodium de l'hémolymph :

Les niveaux en Na^+ de l'hémolymph de la larve sont relativement faibles pendant la 4^{ème} mue et baissent à nouveau chez les larves après la mue avant le premier repas (Fig. 1 A). Le Na^+ de l'hémolymph augmente significativement pendant la période d'alimentation active pour baisser à nouveau chez les larves qui filent. La température plus élevée augmente le Na^+ de l'hémolymph chez les larves qui s'alimentent et les augmentations sont plus élevées à 36° C qu'à 32° C.

Le Na^+ de l'hémolymph des chrysalides est moins important que chez les larves qui filent (Fig. 5) et présente une augmentation plus importante à 36° C qu'à 32° C.

Concentration en potassium de l'hémolymph :

Les niveaux en K^+ de l'hémolymph chez les larves du 5^{ème} âge sont relativement plus élevés que les niveaux en Na^+ (Fig. 2 A). Les niveaux de K^+ sont relativement bas pendant la mue et présentent une baisse supplémentaire chez les larves après la mue, suivis par des augmentations au fur et à mesure des jours chez les larves qui se nourrissent, pour diminuer à nouveau chez les larves

qui filent. Les niveaux de K^+ présentent aussi une augmentation à des températures plus élevées et les augmentations relatives observées sont plus élevées à $36^\circ C$ qu'à $32^\circ C$. Les niveaux de K^+ de l'hémolymphe sont relativement plus élevés chez les ehrysalides femelles que chez les ehrysalides mâles et présentent une baisse significative pendant le stade de développement du pré-adulte chez les deux sexes (Fig. 5). Les niveaux K^+ de l'hémolymphe sont relativement peu affectés lors de l'exposition des ehrysalides à une température plus élevée.

Concentration en calcium de l'hémolymphe :

Le Ca^{2+} de l'hémolymphe présente une chute significative chez les larves après la mue (Fig. 3 A), mais présente une augmentation significative chez les larves qui se nourrissent, pour chuter à nouveau chez les larves qui filent. A une température plus élevée, les niveaux de Ca^{2+} de l'hémolymphe présentent une baisse plus importante à $36^\circ C$ qu'à $32^\circ C$. La concentration en Ca^{2+} de l'hémolymphe est plus importante chez les ehrysalides femelles que chez les mâles (Fig. 6) et fluctue plus au cours du développement chez les chrysalides femelles que chez les ehrysalides mâles.

Concentration en magnésium de l'hémolymphe :

Le Mg^{2+} de l'hémolymphe relativement bas chez les larves après la mue, augmente de manière conséquente chez les larves qui se nourrissent (Fig. 4A), mais baisse de manière significative chez les larves qui filent. Les concentrations en Mg^{2+} de l'hémolymphe présentent une baisse plus importante à $36^\circ C$ qu'à $32^\circ C$.

Le Mg^{2+} de l'hémolymphe des pré-nymphe présente une chute significative par rapport à celui des larves qui filent. Les niveaux de Mg^{2+} de l'hémolymphe s'améliorent chez les chrysalides et chutent à nouveau pendant l'étape du développement du pré-adulte. La concentration en Mg^{2+} de l'hémolymphe est relativement plus élevée chez les ehrysalides femelles que chez les chrysalides mâles. Les niveaux de Mg^{2+} de l'hémolymphe baissent pendant toutes les étapes du développement nymphal de manière plus significative à $36^\circ C$ qu'à $32^\circ C$ (Fig. 6).

Niveaux de cations dans les excréments du ver à soie :

Les cations sont sécrétés dans l'ordre $K^+ > Mg^{2+} > Ca^{2+} > Na^+$ (Figs. 1B-4B). L'élimination des cations par les excréments est relativement plus importante chez les larves qui muent, après la mue et chez les larves qui filent. Par contre, les larves qui se nourrissent excrètent des niveaux relativement plus bas de tous les cations. A des températures plus élevées, les niveaux de Na^+ , de K^+ , de Ca^{2+} et de Mg^{2+} dans les excréments du ver à soie sont relativement moins importants que chez le témoin et les baisses remarquées sont relativement plus importantes à 36° qu'à $32^\circ C$.

Composition en cations de la feuille de mûrier :

La concentration en cations dans la feuille de mûrier s'exprime en meq / kg de poids sec (Fig. 7). Chaque valeur est la moyenne de dix huit observations indépendantes. La concentration en Mg^{2+} (517,5) de la feuille de mûrier est relativement élevée, suivie par K^+ (334,5), Ca^{2+} (139,7) et Na^+ (122,5).

DISCUSSION

La composition cationique de l'hémolymphe de l'insecte a été largement étudiée chez tous les ordres d'insectes, mais il n'existe pas de données sur les différents stades de développement chez une espèce d'insecte (Florkin et Jeuniaux, 1974). La composition en cations de l'hémolymphe chez *Bombyx mori* est similaire à celle de la feuille de mûrier (Figs. 1-4 et 7). L'alimentation, la température et les maladies influencent la composition cationique de l'hémolymphe d'une espèce d'insecte (Mullins, 1985). Le plasma de l'hémolymphe du ver à soie est caractérisé par un Na^+ faible et des concentrations

en K^+ et en Mg^{2+} très élevées et un Ca^{2+} modérément élevé comme chez la feuille de mûrier. Les cations inorganiques contribuent au cinquième (20,4 %) de la pression osmotique totale de l'hémolymphe et sont équilibrés seulement partiellement par les anions comme les chlorures (7,4 %), les bicarbonates (3,6 %) et le phosphate labile (0,7 %) chez le ver du tabac, *Manduca sexta* (Jungreis, 1978). Weevers (1966) a rapporté une composition ionique de l'hémolymphe similaire chez le ver à soie tassar, *Antheraea mylitta*. La composition cationique de l'hémolymphe présente des changements significatifs pendant les cinq stades physiologiquement distincts de croissance et de développement, c'est-à-dire les stades de la mue, de post-mue, d'alimentation, de filage et nymphal. La concentration en cations de l'hémolymphe est plus élevée pendant la mue qu'après la mue. On observe une augmentation de la concentration en cations de l'hémolymphe pendant la 4^{ème} mue chez les larves du papillon géant, *Hyalophora cecropia* (Harvey et coll., 1975). On peut attribuer la chute des niveaux cationiques à partir du stade de la mue jusqu'après la mue, aux changements rapides qui se produisent dans les niveaux de liquides de l'hémolymphe pendant le cycle de la mue. Ziegler et coll., (2000) ont observé que l'augmentation soudaine du volume de l'hémolymphe entre la fin de la pré-mue et entre les mues sert à développer la cuticule pendant la mue chez l'isopode, *Ligia pallasii*. Les cations sont présents à une concentration relativement élevée pendant le stade de l'alimentation et semblent être déterminés par les taux relatifs de leur absorption par la lumière de l'intestin moyen et de leur excrétion par les tubes de Malpighi. Les taux d'absorption et d'excrétion des cations dépendent de leur participation à l'homéostasie fonctionnelle du ver à soie et de leur concentration dans la feuille de mûrier. Mg^{2+} et K^+ sont présents à des niveaux relativement plus élevés, suivis par Ca^{2+} et Na^+ à la fois dans la feuille et dans l'hémolymphe de la larve. Mais, chez les larves qui s'alimentent, K^+ est excrété en quantités significativement plus élevées que Mg^{2+} probablement pour empêcher que le ratio Na^+ / K^+ chute trop bas, puisqu'une concentration plus faible en Na^+ porte sérieusement atteinte à la fonction neurale. Une élimination excrétrice plus faible du Na^+ et donc des taux de rétention plus élevés dans l'hémolymphe sert à défendre favorablement le ratio Na^+ / K^+ . On observe une corrélation négative entre les concentrations de cations de l'hémolymphe et les excréments du ver à soie. Les niveaux de cation de l'hémolymphe sont maintenus par une excrétion contrôlée par les tubes de Malpighi (Figs. 1B- 4B). Les niveaux de Na^+ dans les excréments des larves qui s'alimentent sont moins importants pendant le stade d'alimentation que pendant les stades sans alimentation, ce qui entraîne des niveaux plus élevés de cations dans l'hémolymphe pendant le stade d'alimentation. Malgré l'augmentation de l'activité d'alimentation pendant la période de croissance active, les niveaux de cations sont plus faibles dans les excréments du ver à soie, en raison de la facilitation de leur absorption pendant la phase de croissance. Les niveaux de cations dans l'hémolymphe pendant le stade de filage sont ramenés aux niveaux des stades avant l'alimentation, comme la mue et la post-mue par l'augmentation des taux d'élimination excrétrice des cations de l'hémolymphe (Figs. 1B-4B). L'excrétion plus élevée de cations chez les larves qui filent que chez les larves qui se nourrissent entraîne une baisse des niveaux cationiques de l'hémolymphe. Les larves qui filent rétrécissent en taille et stockent de grandes quantités de soie amorphe dans la lumière de la glande séricigène. La source immédiate et proche d'eau pour la biosynthèse de la soie est l'hémolymphe et la diminution consécutive du volume de l'hémolymphe nécessite l'élimination des cations pour maintenir la pression osmotique. La concentration en cations de l'hémolymphe est maintenue relativement élevée pendant le stade nymphal sans alimentation, en raison de l'affaiblissement de la fonction excrétrice. On observe une augmentation significative de la concentration en Na^+ et en K^+ de l'hémolymphe, à cause de la décomposition de la glande salivaire et du début de la vitellogénèse, pendant l'apolyse nymphale jusqu'au développement du pré-adulte chez le puceron *Chironomus thummi* (Schin et Moore, 1977). On observe plus de cations dans l'hémolymphe chez les chrysalides femelles de *Bombyx mori*, puisque la vitellogénèse est active pendant le stade de développement nymphal chez le ver à soie. La quantité de feuilles ingérées est plus élevée chez les larves femelles puisqu'elles doivent apporter les ressources nutritives pour la ponte de 500 à 600 œufs viables par le

papillon. La séparation des sexes est difficile au stade larvaire de développement chez le ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* et on ne peut donc pas déterminer les indices de consommation chez les larves mâles et femelles. On observe une augmentation du Mg^{2+} de l'hémolymphe en raison de la diminution du volume pendant la nymphose chez le papillon géant, *Hyalophora cecropia* (Harvey et coll., 1975). Dans cette expérience, parmi les cations, les niveaux de K^+ présentent une augmentation significative dans l'hémolymphe de la chrysalide.

Quand les stades larvaires sont exposés à une température plus élevée, les cations monovalents comme Na^+ et K^+ augmentent, tandis que les cations divalents comme Ca^{2+} et Mg^{2+} diminuent, les changements observés en pourcentage étant plus importants à 36° C qu'à 32° C. Les cations monovalents de l'hémolymphe sont hyper-régulés à une température plus élevée. Les niveaux des cations monovalents dans l'hémolymphe et dans les excréments présentent une relation inversée, ce qui suggère une régulation de leurs niveaux dans l'hémolymphe par l'excrétion contrôlée. Mais les cations divalents de l'hémolymphe sont plus faibles à des températures plus élevées, malgré des taux plus faibles d'excrétion, ce qui suggère leur transport vers des liquides inter et intracellulaires, comme protection contre le dessèchement osmotique à des températures plus élevées. On a rapporté un mouvement bidirectionnel des cations de ce type entre l'hémolymphe et l'épiderme pendant le cycle de mue chez *Scylla serrata* (Pratoomchat et coll., 2002). Les cations comme le Na^+ , le K^+ et le Ca^{2+} sont liés aux protéines chez *Galleria mellonella* (Plantevin, 1967). On peut attribuer le changement contrasté entre les deux types de cations et le degré plus élevé de changement à 36° C qu'à 32° C, à un stress de déshydratation plus important à une température plus élevée. On n'observe pas de différence sexuelle significative de la composition cationique de l'hémolymphe à une température plus élevée, bien que les chrysalides femelles soient plus sensibles à la température que les chrysalides mâles (Firdose et Srinivasa Reddy, 2007). Nicolson (1974) a signalé une réduction du volume de l'hémolymphe, sans aucun changement apparent dans la concentration osmotique et ionique, quand on expose le phasme *Carausius morosus* à un stress de déshydratation prolongé. Les températures sélectionnées ne peuvent pas avoir provoqué de stress de déshydratation significatif, puisque les chrysalides sont protégées par une peau nymphale fortement sclérosée et mélanisée. La détérioration de la fonction excrétrice chez la chrysalide n'a pas de rôle important à jouer dans la régulation des cations, d'où l'augmentation marginale des niveaux de cations dans l'hémolymphe à une température plus élevée, dans le système fermé de la chrysalide.

RATE OF HORIZONTAL AND VERTICAL TRANSMISSION OF NIK-5hm, A NEW MICROSPORIDIAN Sp. CAUSING PEBRINE DISEASE IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

T. SELVAKUMAR*, B. NATARAJU, M. BALAVENKATASUBBAIAH,
S. D. SHARMA, K. CHANDRASEKHARAN & P. SUDHAKARA RAO

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

Different microsporidian species are observed to cause microsporidiosis in silkworm. In India microsporidian sp. viz., *N. bombycis* (NIK-1s), NIK-2r, NIK-3h and NIK-4m were isolated from silkworm and microsporidia spp. such as MCpyB1, BCpoB1 and MCcrB1 were isolated from butterflies collected from mulberry fields. Different microsporidian sp. differ by their site of infection to host tissues and transmission rates. NIK-5hm which was isolated recently is different from other microsporidian spp. by having spore formation inside the haemocytes of silkworm. In the present study the rate of horizontal and vertical / transovarial transmission of NIK-5hm in silkworm and its impact on cocoon characters was studied.

It is observed that the new microsporidian sp. NIK-5hm transmits the infection by both horizontal and vertical transmission and spreads the infection in silkworm colony and to their progeny. The rate of horizontal and vertical transmission of NIK-5hm microsporidian in silkworm was 86.33 and 81.67 %, respectively while *N. bombycis* recorded 81.67 and 100 % respectively. The infection by NIK-5hm also affects the cocoon characters of silkworm and significantly reduces the cocoon weight, shell weight and silk ratio when compared to control batch.

Keywords: Cocoon characters; Infection; NIK-5hm; Horizontal and Vertical Transmission; Silkworm.

INTRODUCTION

Pebrine disease is caused by *N. bombycis* and it is a unique pathogen transmitted by way of egg i.e., through transovarial transmission and by the ingestion of contaminated mulberry leaf by silkworms. The disease is also transmitted by transovum transmission through the contamination of egg's surface (Masera, 1938). In addition to *N. bombycis*, several other microsporidia belonging to genera *Nosema* sp. (NIS-001, NIS-M11, NIS-M14, NIK-2r and NIK-3h.), *Vairimorpha* sp. (NIS-M12 and NIK-4m), *Microsporidium* sp. (NIS-M25), *Pleistophora* sp. (NIS-M27), *Thelohania* sp. (NIS-M32) and *Leptomonas* sp. were reported to cause infection in silkworm and in other insects (Ananthalakshmi *et al.*, 1994; Kishore *et al.*, 1994; Hayasaka *et al.*, 2002; Hylis *et al.*, 2006). These microsporidia differ in their spore morphology, virulence, site of infection and nature of transmission. The transovarial transmission differs with different microsporidia infecting silkworm. The transovarial transmission of *N. bombycis* and *Nosema* sp., NIS-M11 has been demonstrated in silkworm by Fujiwara (1980), Han and Watanabe (1988) and Iwashita *et al.* (1990). The transovarial transmission of *N. bombycis* is also demonstrated in *Diaphania pulverulentalis*, a pest of mulberry

* Silkworm Seed Production Centre, NSSO, CSB, K. R. Nagar - 571 602, India.

(Ramagowda and Geethabai, 2005). The rate of transmission of *Nosema* sp. NIK-3h is reported to be low. It transmits the infection to the progeny by only 1.80 ± 0.4 %, while the standard strains *N. bombycis* and *Nosema* sp. NIK- 2r transmit the infection to an extent of 100 % (Ananthalakshmi *et al.*, 1994; Nageswara Rao *et al.*, 2004). There are reports of absence of transovarial transmission in *Vairimorpha* sp. NIS-M12, NIK-4m, *Microsporidium* sp. NIS-M25, *Pleistophora* sp. NIS-N27 and *Thelohania* sp. NIS-M32 (Tanaka *et al.*, 1972; Fujiwara, 1980, 1984a, b; Ananthalakshmi *et al.*, 1994). Recently Selvakumar *et al.* (2005) isolated a new microsporidian sp. NIK-5hm from silkworm which is highly pathogenic to silkworm and forms spores in the haemocytes of silkworm. Limited studies are conducted on this microsporidian sp. regarding spore morphology, virulence and pathogenicity but no information is available on the rate of horizontal and vertical transmission. Hence, the present work is carried out to study the rate of horizontal and vertical transmission of NIK-5hm and its impact on economic cocoon characters of silkworm.

MATERIALS AND METHODS

Horizontal Transmission:

To determine the rate of horizontal transmission / rate of spread of NIK-5hm infection in healthy silkworm colony of CSR2 breed, a specific number of infected carrier larvae were introduced into a healthy colony of known number of individuals. There were 2 sets of carriers. One set of carriers carried the NIK-5hm and another set of carriers carried the *N. bombycis* infection. Immediately after first moult (II instar) a few larvae were inoculated with spores of NIK-5hm and *N. bombycis* (1×10^6 spores / ml) separately and rearing was conducted. During second moult a few inoculated larvae were homogenized and examined under phase contrast microscope for the presence of respective spores and these larvae were considered as carriers. The feces collected from the infected silkworm of NIK-5hm and *N. bombycis* were also observed under phase contrast microscope and the infection was confirmed.

Specific number of NIK-5hm infected larval carriers was introduced [2 in 98 (2 %), 4 in 96 (4 %), 6 in 94 (6 %) and 8 in 92 (8 %)] on the zero day of third instar silkworms. Similarly specific number of *N. bombycis* carriers was also introduced on the zero day of third instar of healthy CSR2 larvae. Another Control batch was also maintained and they did not carry any infected carriers. Each treatment had three replications of 100 larvae each. After introduction of carriers in the healthy colony, the larvae were reared following the standard procedure till spinning. All the larvae including the larvae died during rearing were examined for the presence of NIK-5hm and *N. bombycis* spores and the results were analyzed by two way anova test (Singh and Chaudhary, 1979) and the results presented in Tables and discussed.

Vertical transmission:

The larvae of CSR2 breed were brushed and reared up to IV moult under optimum environmental conditions as per the standard rearing method (Datta, 1992). Immediately after IV moult silkworm larvae were fed with a mulberry leaf containing an inoculum of 1×10^5 spores / ml of NIK-5hm spores *per os*. In the same way *N. bombycis* were also fed to silkworm with same concentration for comparison. Another set of larvae were kept without inoculation which served as control batch. All the batches were reared till spinning and allowed to spin the cocoons. Three replications were maintained for each treatment with 200 silkworms for each replication. All the cocoons spun from inoculated and control batches were kept under optimum temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) and humidity (80 ± 5 RH) conditions for moth emergence. Moths obtained from the inoculated larvae were provisionally regarded as infected and were allowed to pair and lay eggs. Moths obtained from batch without inoculation were provisionally regarded as healthy and were allowed to pair and lay eggs. The pairing of moths was as follows:

One set of healthy male moths (HM) were allowed to pair with infected female moths (IF). In another set, infected male moths (IM) were paired with infected female moths (IF). Yet in another set of experiment healthy male moths (HM) were allowed to pair with healthy female moths (HF). After mating, female moths were allowed to lay eggs on egg sheets and layings were prepared from individual mother moths. The male and female moths were macerated separately after egg laying and the wet mount were examined for the spore of microsporidia and the observation were recorded. The layings obtained from the different treatments were surface sterilized by soaking them in 2% formalin solution for 10 min at room temperature. The surface disinfected layings were treated with HCl (Specific gravity of 1.075 at 46.1°C) for 5 min in a hot water bath to terminate the egg diapause and washed in running tap water to remove the traces of HCl. The layings were incubated for normal embryonic development at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $80 \pm 5\%$ RH. After head pigmentation stage, layings were covered with black paper till the blue egg stage and were exposed to light to stimulate uniform hatching. The newly hatched larvae from each layings were reared following the standard silkworm rearing method up to II moult and larvae were homogenized individually and examined for microsporidian spores. One hundred larvae / batch / treatment were picked randomly and examined under phase contrast microscope for the presence of NIK-5hm / *N. bombycis* spores. The percent of transmission with respect to treatment was calculated.

Impact on economic cocoon characters:

The larvae of CSR2 breed were brushed and reared up to II moult under optimum environmental conditions as per the standard rearing method (Datta, 1992). Immediately after II moult, larvae were inoculated with an inoculum of 1×10^5 spores/ml of NIK-5hm and *N. bombycis* separately. A control batch without inoculation of microsporidian spores was also maintained for comparison. Three replications were maintained for each treatment with 200 silkworms for each replication. Rearing was conducted up to spinning as per standard rearing method. The mature larvae were allowed to spin their cocoons and harvested on 5th day and economic characters of cocoon viz., Single cocoon weight, Single shell weight and Silk Ratio % were assessed and analyzed statistically by one way anova test (Singh and Chaudhary, 1979).

RESULTS

The results of horizontal transmission of NIK-5hm infection in the healthy silkworm colony and its comparison with *N. bombycis* are presented in Table I. It is observed that 2, 4, 6 and 8 carriers of NIK-5hm infected silkworms spread the infection to an extent ranging from 52.67% to 86.33%. The rate of spread of infection of NIK-5hm was high (52.67% to 86.33%) compared to *N. bombycis* where, the infection was 46.33 - 81.67%. Though a difference was found, it was statistically non significant (Table I).

The result of studies on the mode of vertical transmission of NIK-5hm microsporidian and *N. bombycis* in CSR2 breed is presented in Fig. 1. The results were compared with mode of transmission of *N. bombycis*. It is observed that larvae hatched from the eggs obtained from infected male $\times$ healthy female (IM $\times$ HF) in respect of both NIK-5hm microsporidian and *N. bombycis* in CSR2 breed (Fig. 1: T3 and T6) did not reveal the infection in their progenies. While in case of progeny larvae hatched from eggs obtained from infected female $\times$ healthy male (IF $\times$ HM) as well as infected female $\times$ infected male (IF $\times$ IM) viz., T1, T2 (NIK-5hm) and T4 and T5 (*N. bombycis*) revealed the infection (Fig. 1). The rate of transmission of NIK-5hm microsporidian to the F1 progeny in T1 treatment batch (IF $\times$ HM) was 81.67 % and in T2 (IF $\times$ IM) it was 81.33 %. In the case of *N. bombycis* microsporidian, the rate of transmission to the F1 progeny in T4 treatment batch (IF $\times$ HM) and T5 treatment (IF $\times$ IM) was 100 %. The progeny of the control batch (HF $\times$ HM) – T7 with no inoculation

of any of the microsporidian (NIK-5hm and *N. bombycis*) did reveal no infection and the rate of transmission was nil.

Table I. Rate of Horizontal Transmission of NIK-5hm and *N. bombycis* infection in silkworm *B. mori* L.

Tableau I. Taux de transmission horizontale de l'infestation par NIK-5hm et par *N. bombycis* chez le ver à soie *B. mori* L.

Sl. No.	No. of Carriers introduced	% infection of microsporidian sp. in silkworm	
		% d'infestation par les espèces de microsporidies chez le ver à soie	
No. de série	Nbre de vecteurs introduits	NIK-5hm	<i>N. bombycis</i>
1	2	52.67 ± 6.11	46.33 ± 6.03
2	4	69.67 ± 7.09	62.33 ± 5.51
3	6	79.33 ± 8.33	73.00 ± 6.24
4	8	86.33 ± 5.51	81.67 ± 7.64
5	0 (Control / Témoin)	00.00	00.00
SE ±		1.91	2.71
CD at 5%		5.74	8.11
SE ± between A × B / Ecart type ± entre A × B			3.83
CD at 5% between A × B / DC à 5 % entre A × B			11.47

Table II. Effect of NIK-5hm and *N. bombycis* infection on economic characters of silkworm cocoon, *B. mori* L.

Tableau II. Effet de l'infestation par NIK-5hm et par *N. bombycis* sur les caractères économiques du cocon du ver à soie, *B. mori* L.

Sl. No.	Microsporidian sp.	Single Cocoon wt (g)	Single Shell wt (g)	Silk Ratio (%)
No. de série	Espèce de microsporidie	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
1	NIK-5hm	1.34 ± 0.02	0.289	21.57 ± 0.10
2	<i>N. bombycis</i>	1.42 ± 0.03	0.306	21.55 ± 0.14
3	Control / Témoin	1.68 ± 0.03	0.395	23.51 ± 0.35
	SE ± / Ecart type ±	0.01	0.00	0.13
	CD at 5% / DC à 5 %	0.05	0.01	0.45

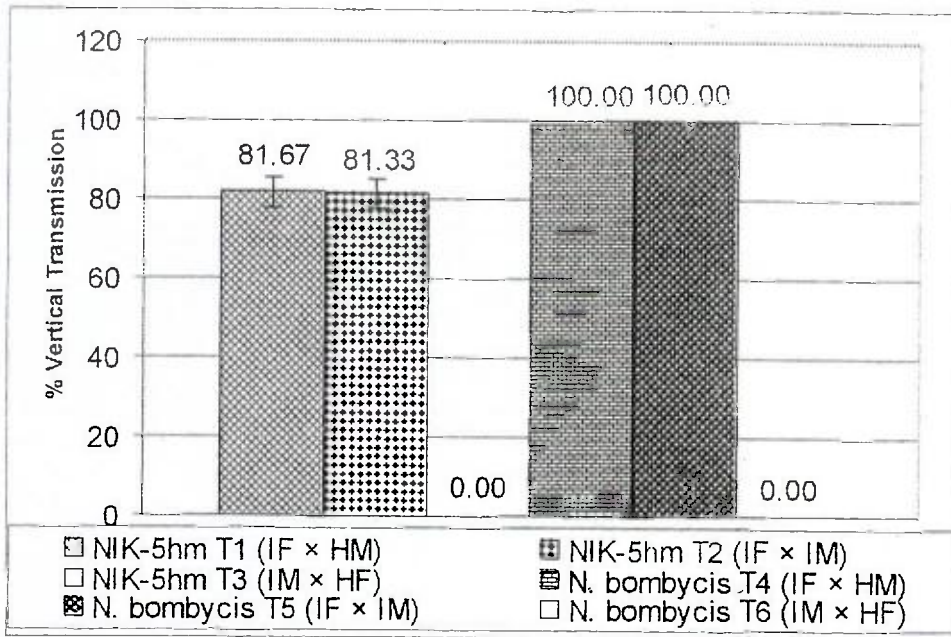


Fig. 1. Rate of vertical transmission of NIK-5hm and *N. bombycis* in silkworm, *B. mori* L.

Fig. 1. Taux de transmission verticale de NIK-5hm et de *N. bombycis* chez le ver à soie, *B. mori* L.

The impact of NIK-5hm and *N. bombycis* infection on cocoon characters of silkworm in CSR2 breed was calculated and presented in Table II and the results are compared with control batch. The single cocoon wt., shell wt. and silk ratio (%) was 1.68g, 0.395 g and 23.51%, respectively in control batch. In case of NIK-5hm microsporidian infected batch, the cocoon characters of silkworm were 1.34 g, 0.289 g and 21.57 % respectively. While in *N. bombycis* infected batch the cocoon characters are 1.42 g, 0.306 g and 21.55 % respectively. It is observed that these characters were significantly reduced compared to control batch when one way anova test was conducted (Table II).

DISCUSSION

The earlier results clearly indicated that the NIK-5hm is pathogenic to silkworm and first it infects the haemocytes and later spores will be discharged into the haemolymph (Selvakumar *et al.*, 2005; Selvakumar *et al.*, 2009). In the case of *N. bombycis*, spores are not formed inside the haemocytes and are observed only in haemolymph. According to several reports, the spores of different microsporidian sp. are infectious and spore formation occurs in the mid gut epithelium, malpighian tubules, silk gland, fat bodies, adipose tissue, gonads and trachea (Fujiwara, 1980; 1985; Han and Watanabe, 1988; Iwashita *et al.*, 1990; Kawarabata, 2003). The microsporidian sp. M32 forms spores

in muscles only (Fujiwara, 1984 b). In the case of M11, M12, M14 and M25, spores do not form in the mid gut epithelium (Fujiwara, 1985; Han and Watanabe, 1988). NIK-5hm also infects different tissues like haemocytes, haemolymph, mid gut, malpighian tubules, fat bodies, silk gland, trachea and gonads. However, the grade of infection was less in gonad, trachea and malpighian tubules compared to *N. bombycis* (Selvakumar *et al.*, 2009).

The new microsporidian sp. NIK-5hm transmits infection to other healthy silkworm larvae and the results of the experiment quantify and affirm the fast spreading nature of the disease through secondary contamination. The extent of contamination was in proportion to the number of infected larvae introduced and it reached to as high as 86.33% level when 8 infected larvae were introduced. In the case of *N. bombycis*, the infection rate was 81.67%. In a similar study, Ishihara and Fujiwara (1965) and Baig *et al.* (1988) also confirmed the above findings and reported that the change of the epizootic pattern corresponded to the change in number of larvae excreting spores of *N. bombycis*.

Investigations on the mode of transmission indicate that the new microsporidian sp., NIK-5hm transmits infection to the progeny. The transmission may be through the infected ovary (transovarial) as is observed in some microsporidia such as *Nosema kingi* in drosophilids (Armstrong, 1976) and *Thelohania* species in mosquitoes (Kellen *et al.*, 1965). In silkworm, *N. bombycis* is reported to transmit infection by transovum (Masera, 1938) and by transovarial transmission (Han and Watanabe, 1988). The transovarial transmission of *N. bombycis* is also demonstrated in *Diaphania pulverulentalis* by Ramagowda and Geethabai (2005). The rate of transovarial transmission of NIK-5hm infection was comparatively lower than the transmission rate by *N. bombycis*. No transmission of either NIK-5hm microsporidian or *N. bombycis* to the progeny occurred in the healthy female $\times$ infected male crosses, indicating that there was no venereal pathway for either microsporidia. Only the female moth transmits the infection and male moth does not. The rate of NIK-5hm transmission in progeny from female moths is 81.67% and 81.33%. However, the rate of transovarial transmission by *N. bombycis* was 100 % in progeny. A similar result of *N. bombycis* in the silkworm was obtained by Ishihara and Fujiwara (1965); Han and Watanabe (1988); Baig (1994) and Ananthalakshmi *et al.* (1994). Difference in rate of transmission of different microsporidians to the progeny in silkworm is also reported. The rate of transmission of *Nosema* sp. NIK-3h and *Nosema* sp. M11 is reported to be low and the infection is transmitted to the progeny by only $1.80 \pm 0.4\%$ and $1.2 \pm 0.41\%$ respectively (Han and Watanabe, 1988; Ananthalakshmi *et al.*, 1994). However, the standard strains *N. bombycis* and *Nosema* sp. NIK-2r transmit the infection to an extent of 100 % (Han and Watanabe, 1988; Ananthalakshmi *et al.*, 1994), whereas the microsporidians such as *Vairimorpha* sp. NIS-M12, NIK-4m, *Microsporidium* sp. NIS-M25, *Pleistophora* sp. NIS-N27 and *Thelohania* sp. NIS-M32 do not transmit the infection at all to the progeny (Kawarabata, 2003; Singh and Saratchandra, 2003).

Apart from high infectivity, horizontal and vertical transmission, the infection of NIK-5hm resulted in significant impact on the economic parameters of silkworm. A comparison in single cocoon wt, single shell wt and SR% with respect to healthy control (1.68g; 0.395g and 23.51%) indicates they are significantly lower with NIK-5hm (1.34g; 0.289g and 21.57%) respectively. When compared with *N. bombycis*, the cocoon wt (1.42g) and shell wt (0.306g) were found significantly lower and there was a non significant difference in SR% (21.55%).

ACKNOWLEDGEMENT

Authors are thankful to Mr. A. K. Palit, Assistant Director (Economics) Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore for his help in Statistical analysis of data.

REFERENCES

- ANANTHALAKSHMI K. V. V., FUJIWARA T. and DATTA R. K. (1994) First report on the isolation of three microsporidians (*Nosema* spp.) from the silkworm, *Bombyx mori* L. in India. *Indian J. Seric.*, 2, 146-148.
- ARMSTRONG E. (1976) Transmission and infectivity studies on *Nosema kingi* in *Drosophilla willistoni* and other drosophilids. *Z. Parasitenkd.*, 50, 161-165.
- BAIG M. (1994) Studies on *Nosema bombycis* N. - A pathogen of silkworm *Bombyx mori* L. Ph. D Thesis, University of Mysore, Mysore.
- BAIG M., SAMSON M. V., SASIDHARAN T. O., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBIAH M. and JOLLY M. S. (1988) Study on the spread of pebrine after introduction of transovarially infected worms in a colony of silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 28, 75-77.
- DATTA R. K. (1992) Guidelines for bivoltine rearing, Central Silk Board, Bangalore, India.
- FUJIWARA T. (1980) Three microsporidians (*Nosema* spp.) from the silkworm *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 49, 229-236.
- FUJIWARA T. (1984 a) A Pleistophora like microsporidian isolated from silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 53, 398-402.
- FUJIWARA T. (1984 b) *Thelanhania* spp. (Microsporidia : *Thelanhaniidae*) isolated from silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 53, 459-460.
- FUJIWARA T. (1985) Microsporidian from silkmoths in egg production sericulture. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 54, 108-111.
- HAN M. S. and WATANABE H. (1988) Transovarial transmission of two microsporidia in the silkworm, *Bombyx mori*, and disease occurrence in the progeny population. *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 41-45.
- HAYASAKA S., NOZAKI M., YASUNAGA-AOKI C., TERAMOTO N., IYAMA K., HATAKEYAMA Y., HASHIGUCHI M. and KAWARABATA T. (2002) A new microsporidian occurring in larvae of *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae) released on an oak tree, *Quercus acutissima* and a possible insect-vector, *Lepidogma kiiensis* (Lepidoptera: *Pyralidae*) inhibiting the same plant. *Sericologia*, 42, 107-111.
- HYLIS M., PILARSKA D. K., OBORNIK M., VAVRA J., SOLTER L. F., WEISER LINDE A. and MCMANUS M. L. (2006) *Nosema chysorrhoea* N. sp. (Microsporidia), isolated from brown tail moth (*Euproctis chysorrhoea* L.) (Lepidoptera, *Lymantriidae*) in Bulgaria: Characterisation and phylogenetic relationships. *J. Invertebr. Pathol.*, 91, 105-114.
- ISHIHARA R. and FUJIWARA T. (1965) The spread of pebrine in a colony of silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Invertebr. Pathol.*, 7, 126-131.
- IWASHITA Y., SUZUKI T., NAKAZATO S. and KOBAYASHI H. (1990) Multiplication and transovarial transmission of three microsporidians infecting the silkworm, *Bombyx mori*. *Tech. Bull. Seric. Sci. Inst.*, 38, 35- 43.
- KAWARABATA T. (2003) Biology of Microsporidians infecting the silkworm, *Bombyx mori*, in Japan. *J. Insect Biotechnol. Sericology*, 72, 1-32.
- KELLEN W. R., CHAPMAN J. E., CLARK T. B. and LINDEGREN J. E. (1965) Host-parasite relationships of some of the *Thelohania* from mosquitoes (Nosematidae: Microsporidia). *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 161-166.
- KISHORE S., BAIG M., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SIVAPRASAD V., IYENGAR M. N. S. and DATTA R. K. (1994) Cross infectivity of microsporidians isolated from wild Lepidopterous insects to silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 33, 126-130.
- MASERA (1938) Azione biologica di metallic sulle uova di *Bombyx mori* L. infetti di pebrina (nota preliminar). *Mem. R. Accad. Sci. Arti. Padova.*, 54, 7.
- NAGESWARA RAO, MUTHULAKSHMI M., KANGINAKUDRA S. and NAGRAJU J. (2004) Phylogenetic relationships of three microsporidian isolates from silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Invertebr. Pathol.*, 3, 87-95.

- RAMEGOWDA T. and GEETHABAI M. (2005) Transovarian transmission of Pebrine spores, *Nosema bombycis* Naegeli in the leaf-roller pest of mulberry, *Diaphania pulverulentalis*. *Sericologia*, 45, 137-141.
- SELVAKUMAR T., NATARAJU B., CHANDRASEKHARAN K., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SUDAHAKARA RAO P., THIAGARAJAN V. and DANDIN S. B. (2005) Isolation of a new microsporidian sp. (NIK-5hm) forming spores within the haemocytes of silkworm, *B. mori* L. *Int. J. Indust. Entomol.*, 11, 63-66.
- SELVAKUMAR T., NATARAJU B., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., CHANDRASEKHARAN K. and SUDHAKARA RAO P. (2009) Pathogenicity of newly isolated microsporidian sp. NIK-5hm in silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, (49, 271-276).
- SINGH T. and SARATCHANDRA B. (2003) Microsporidian disease of the silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). *Int. J. Indust. Entomol.*, 6, 1-9.
- TANAKA S., SHIMIZU T., KOBAYASHI M. and ISHIHARA R. (1972) A new microsporidian pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 41, 89-95.

TAUX DE TRANSMISSION HORIZONTALE ET VERTICALE DE NIK-5hm, UNE NOUVELLE ESPECE DE MICROSPORIDIE PROVOQUANT LA MALADIE DE LA PEBRINE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

T. SELVAKUMAR*, B. NATARAJU, M. BALAVENKATASUBBAIAH, S. D. SHARMA, K. CHANDRASEKHARAN & P. SUDHAKARA RAO

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

On a observé que différentes microsporidies provoquent la microsporidiose chez le ver à soie. En Inde, on a isolé les espèces de microsporidies N. bombycis (NIK-1s), NIK-2r, NIK-3h et NIK-4m chez le ver à soie et on a isolé les espèces de microsporidies telles que MCPyB1, BCpoB1 et MCcrB1 sur des papillons recueillis dans les muraies. Les différentes espèces de microsporidies diffèrent de par leur site d'infestation dans les tissus de l'hôte et de par leurs taux de transmission. NIK-5hm que l'on a récemment isolée est différente des autres espèces de microsporidies car la formation de ses spores se produit à l'intérieur des hémocytes du ver à soie. Dans cette étude, on a étudié le taux de transmission verticale / transovarienne et horizontale de NIK-5hm chez le ver à soie et son impact sur les caractères du cocon.

On observe que la nouvelle espèce de microsporidie NIK-5hm transmet l'infestation à la fois horizontalement et verticalement et répand l'infestation dans la colonie de vers à soie et à sa descendance. Le taux de transmission horizontale et verticale de la microsporidie NIK-5hm chez le ver à soie est de respectivement 86,33 et 81,67 %, tandis que pour N. bombycis il est respectivement de 81,67 et 100 %. L'infestation par NIK-5hm affecte aussi les caractères du cocon et diminue le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse de manière significative par comparaison au lot témoin.

INTRODUCTION

La maladie de la pébrine est provoquée par *N. bombycis* et c'est un pathogène unique transmis par l'œuf, c'est-à-dire par transmission transovarienne et par l'ingestion par les vers à soie de feuilles de mûrier contaminées. La maladie est aussi transmise transovum par la contamination de la surface de l'œuf (Mäser, 1938). En plus de *N. bombycis*, on a rapporté que plusieurs autres microsporidies appartenant aux genres *Nosema* (NIS-001, NIS-M11, NIS-M14, NIK-2r et NIK-3h), *Vairimorpha* (NIS-M12 et NIK-4m), *Microsporidium* (NIS-M25), *Pleistophora* (NIS-M27), *Thelohania* (NIS-M32) et *Leptomonas* provoquent l'infestation chez le ver à soie et chez d'autres insectes (Antanthalakshmi et coll., 1994 ; Kishore et coll., 1994 ; Hayasaka et coll., 2002 ; Hylis et coll., 2006). Ces microsporidies diffèrent par la morphologie de leurs spores, par leur virulence, par leur lieu d'infestation et par la nature de leur transmission. La transmission transovarienne diffère en fonction des différentes microsporidies, qui infestent le ver à soie. Fujiwara (1980), Han et Watanabe (1988) et Iwashita et coll., (1990) ont démontré la transmission transovarienne de *N. bombycis* et de NIS-M11 de *Nosema* sp. On a aussi démontré la transmission transovarienne de *N. bombycis* chez *Diaphania pulverulentalis*, un parasite du mûrier (Ramagowda et Geethabai, 2005). On a rapporté que le taux

* Silkworm Seed Production Centre, NSSO, CSB, K. R. Nagar – 571 602, Inde

de transmission de l'espèce NIK-3h de *Nosema* est faible. Elle transmet l'infestation à la descendance à seulement $1,80 \pm 0,4 \%$, tandis que les souches standards *N. bombycis* et l'espèce NIK-2r de *Nosema* transmettent l'infestation à 100 % (Ananthalakshmi et coll., 1994 ; Nageswara Rao et coll., 2004). Il existe des rapports sur l'absence de transmission transovarienne chez les espèces NIS-M12, NIK-4m de *Vairimorpha*, chez l'espèce NIS-M25 de *Microsporidium*, chez l'espèce NIS-N27 de *Pleistophora* et chez l'espèce NIS-M32 de *Thelohania* (Tanaka et coll., 1972 ; Fujiwara, 1980, 1984a, b ; Ananthalakshmi et coll., 1994). Récemment, Selvakumar et coll., (2005) ont isolé une nouvelle espèce de microsporidie, NIK-5hm, sur le ver à soie, qui est très pathogène pour le ver à soie et forme des spores dans les hémocytes du ver à soie. Des études limitées ont été réalisées sur cette espèce de microsporidie concernant la morphologie de sa spore, sa virulence et sa pathogénicité, mais il n'y a pas d'informations sur son taux de transmission horizontale et verticale. Nous avons donc entrepris cette recherche pour étudier le taux de transmission horizontale et verticale de NIK-5hm et son impact sur les caractères économiques du cocon et du ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

Transmission horizontale :

Pour déterminer le taux de transmission horizontale / le taux de propagation de l'infestation par NIK-5hm dans la colonie saine de vers à soie de la lignée CSR2, on introduit un nombre spécifique de larves vecteurs infestées chez un nombre connu d'individus d'une colonie saine. Il y a 2 lots de vecteurs. Un lot de vecteurs transporte NIK-5hm et un autre lot de vecteurs transporte l'infestation *N. bombycis*. Immédiatement après la première mue (2^{ème} âge), on inocule séparément quelques larves avec les spores de NIK-5hm et de *N. bombycis* (1×10^6 spores / ml) et on procède à l'élevage. Pendant la 2^{ème} mue, on homogénéise quelques larves inoculées et on les examine sous un microscope à contraste de phase pour la présence des spores respectives et on considère ces larves comme vecteurs. On observe aussi les excréments des vers à soie infestés par NIK-5hm et par *N. bombycis* sous un microscope à contraste de phase et l'infestation est confirmée.

On introduit un nombre spécifique de larves vecteurs infestées par NIK-5hm [2 sur 98 (2 %), 4 sur 96 (4 %), 6 sur 94 (6 %) et 8 sur 92 (8 %)] le jour zéro du troisième âge chez les vers à soie. De même, on introduit un nombre spécifique de vecteurs de *N. bombycis* le jour zéro du troisième âge chez des larves CSR2 saines. On maintient aussi un autre lot témoin, qui ne transporte aucun vecteur infesté. Chaque traitement a trois répétitions de 100 larves. Après l'introduction des vecteurs dans la colonie saine, on élève les larves en suivant la procédure standard jusqu'au filage. On examine toutes les larves y compris celles qui sont mortes pendant l'élevage par rapport à la présence de spores de NIK-5hm et de *N. bombycis*, on analyse les résultats avec un test anova à deux facteurs (Singh et Chaudhary, 1979) et les résultats sont présentés dans les Tableaux et commentés.

Transmission verticale :

On lève les larves de la lignée CSR2 et on les élève jusqu'à la 4^{ème} mue dans des conditions environnementales optimales d'après la méthode d'élevage standard (Datta, 1992). Immédiatement après la 4^{ème} mue, on nourrit les larves avec des feuilles de mûrier contenant un inoculum de 1×10^5 spores / ml de spores NIK-5hm *per os*. De la même manière, on alimente aussi le ver à soie avec *N. bombycis*, avec la même concentration pour comparaison. On conserve un autre lot de larves sans inoculation, qui sert de lot témoin. On élève tous les lots jusqu'au filage et on les laisse filer leurs cocons. On maintient trois répétitions pour chaque traitement, avec 200 vers à soie pour chaque répétition. On conserve tous les cocons filés des lots inoculés et témoins dans des conditions de température ($25 \pm 1^\circ \text{C}$) et d'humidité optimales ($80 \pm 5 \text{ HR}$), pour l'émergence des papillons. On considère provisoirement les papillons obtenus des larves inoculées comme infestés et on les laisse s'accoupler et pondre des œufs. On considère provisoirement les papillons obtenus du lot sans

inoculation comme sains et on les laisse s'accoupler et pondre des œufs. L'accouplement des papillons se fait comme suit :

On laisse un lot de papillons mâles sains (HM) s'accoupler avec les papillons femelles infestés (IF). Dans un autre lot, on accouple les papillons mâles infestés (IM) avec les papillons femelles infestés (IF). Dans un autre lot d'expérience, on laisse les papillons mâles sains (HM) s'accoupler avec des papillons femelles sains (HF). Après l'accouplement, on laisse les papillons femelles pondre leurs œufs sur des cartons de ponte et on prépare les pontes à partir des papillons mères individuels. On fait macérer les papillons mâles et femelles séparément après la ponte des œufs et on examine le support mouillé par rapport aux spores des microsporidies et on enregistre les observations. On stérilise la surface des pontes provenant des différents traitements, en les trempant dans une solution de formol à 2 % pendant 10 min. à température ambiante. On traite les pontes dont la surface a été désinfectée avec de l'HCl (densité de 1,075 à 46,1° C) pendant 5 min dans un bain-marie chaud pour terminer la diapause des œufs et on les lave sous l'eau du robinet pour enlever les traces d'HCL. On incube les pontes pour un développement embryonnaire normal à $25^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ et avec $80 \pm 5\%$ d'HR. Après le stade de pigmentation de la tête, on recouvre les pontes avec du papier noir jusqu'au stade où l'œuf devient bleu et on les expose à la lumière pour stimuler une éclosion uniforme. On élève les larves qui viennent d'éclore de chaque ponte en suivant la méthode d'élevage habituelle jusqu'à la deuxième mue et on homogénéise les larves individuellement et on les examine par rapport aux spores de microsporidies. On prend au hasard 100 larves / lot / traitement et on les examine sous un microscope à contraste de phase par rapport à la présence de spores de NIK-5hm / de *N. bombycis*. On calcule le pourcentage de transmission par rapport au traitement.

Impact sur les caractères économiques du cocon :

On lève les larves de la lignée CSR2 et on les élève jusqu'à la 2^{ème} mue dans des conditions environnementales optimales d'après la méthode d'élevage standard (Datta, 1992). Immédiatement après la 2^{ème} mue, on inocule séparément les larves avec un inoculum de 1×10^5 spores / ml de NIK-5hm et de *N. bombycis*. On maintient aussi un lot témoin sans inoculation de spores de microsporidie pour comparaison. On maintient trois répétitions pour chaque traitement, avec 200 vers à soie pour chaque répétition. On procède à l'élevage jusqu'au filage d'après la méthode d'élevage standard. On laisse les larves matures filer leurs cocons et on les récolte le 5^{ème} jour, puis on évalue et on analyse statistiquement les caractères économiques du cocon, c'est-à-dire le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse au moyen d'un test anova à un facteur (Singh et Chaudhary, 1979).

RESULTATS

Les résultats sur la transmission horizontale de l'infestation par NIK-5hm à la colonie de vers à soie sains et sa comparaison avec *N. bombycis* sont présentés dans le Tableau I. On observe que 2, 4, 6 et 8 vers à soie vecteurs infestés par NIK-5hm propagent l'infestation à un degré compris entre 52,67 % et 86,33 %. Le taux de propagation de l'infestation par NIK-5hm est élevé (52,67 % à 86,33 %), par comparaison à *N. bombycis* où l'infestation est de 46,33 à 81,67 %. Bien qu'on observe une différence, elle n'est pas significative sur le plan statistique (Tableau I).

Les résultats de l'étude sur le mode de transmission verticale de la microsporidie NIK-5hm et de *N. bombycis* chez la lignée CSR2 sont présentés dans la Fig. 1. On compare les résultats avec le mode de transmission de *N. bombycis*. On observe que les larves qui éclosent à partir des œufs obtenus de mâle infesté $\times$ femelle saine (IM $\times$ IF) ne révèlent pas d'infestation dans leur descendance à la fois par la microsporidie NIK-5hm et par *N. bombycis* chez la lignée CSR2 (Fig. 1 T3 et T6). Tandis que dans le cas de larves de la descendance ayant éclos à partir d'œufs obtenus de femelle infestée $\times$ mâle sain (IF $\times$ HM) ainsi que de femelle infestée $\times$ mâle infesté (IF $\times$ IM) c'est-à-dire T1, T2 (NIK-5hm)

et T4 et T5 (*N. bombycis*), on observe une infestation (Fig. 1.) Le taux de transmission de la microsporidie NIK-5hm à la descendance F1 dans le lot de traitement T1 (IF × HM) est de 81,67 % et avec T2 (IF × IM) il est de 81,33 %. Dans le cas de la microsporidie *N. bombycis*, le taux de transmission à la descendance F1 avec le lot de traitement T4 (IF × HM) et le traitement T5 (IF × IM) est de 100 %. La descendance du lot témoin (HF × HM) - T7 sans inoculation d'aucune des microsporidies (NIK-5hm et *N. bombycis*) ne révèle pas d'infestation et le taux de transmission est nul.

L'impact de l'infestation par NIK-5hm et par *N. bombycis* sur les caractères du cocon chez la lignée CSR2 est calculé et présenté dans le Tableau II et les résultats sont comparés avec le lot témoin. Le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse (%) sont de respectivement 1,68 g, 0,395 g et de 23,51 % chez le lot témoin. Dans le cas du lot infesté par la microsporidie NIK-5hm, les caractères du cocon et du ver à soie sont de respectivement 1,34 g ; 0,289 g et de 21,57 %. Tandis que chez le lot infesté par *N. bombycis*, les caractères du cocon sont de respectivement 1,42 g, 0,306 et 21,55 %. On observe que ces caractères ont diminué de manière significative, par comparaison au lot témoin quand on réalise un test anova à un facteur (Tableau II).

DISCUSSION

Les résultats antérieurs indiquaient clairement que NIK-5hm est pathogène pour le ver à soie et infeste d'abord les hémocytes, les spores étant ensuite déchargées dans l'hémolymphe (Selvakumar et coll., 2005 ; Selvakumar et coll., 2009). Dans le cas de *N. bombycis*, les spores ne se forment pas à l'intérieur des hémocytes et on ne les observe que dans l'hémolymphe. Selon plusieurs rapports, les spores de différentes espèces de microsporidies sont infectieuses et la formation des spores se produit dans l'épithélium de l'intestin moyen, dans les tubes de Malpighi, dans la glande séricigène, dans les corps gras, dans les tissus adipeux, dans les gonades et dans la trachée (Fujiwara, 1980 ; 1985 ; Han et Watanabe, 1988 ; Iwashita et coll., 1990 ; Kawarabata, 2003). L'espèce de microsporidie M32 ne forme des spores que dans les muscles (Fujiwara, 1984 b). Dans le cas de M11, M12, M14 et M25, les spores ne se forment pas dans l'épithélium de l'intestin moyen (Fujiwara, 1985 ; Han et Watanabe, 1988). NIK-5hm infeste aussi différents tissus comme les hémocytes, l'hémolymphe, l'intestin moyen, les tubes de Malpighi, les corps gras, la glande séricigène, la trachée et les gonades. Cependant, le taux d'infestation est moins important dans la trachée, les gonades et dans les tubes de malpighi, par comparaison à *N. bombycis* (Selvakumar et coll., 2009).

La nouvelle espèce de microsporidie NIK-5hm transmet l'infestation aux autres larves saines de ver à soie et les résultats de l'expérience quantifient et confirment la propagation rapide de la maladie par la contamination secondaire. Le degré de contamination est proportionnel au nombre de larves infestées introduites et il atteint un niveau aussi élevé que 86,33 %, quand on introduit 8 larves infestées. Dans le cas de *N. bombycis*, le taux d'infestation est de 81,67 %. Dans une étude similaire, Ishihara et Fujiwara (1965) et Baig et coll., (1988) ont aussi confirmé ces résultats et rapporté que le changement de modèle épizootique correspond au changement du nombre de larves qui excrètent des spores de *N. bombycis*.

Les recherches sur le mode de transmission indiquent que la nouvelle espèce de microsporidie NIK-5hm transmet l'infestation à la descendance. La transmission pourrait se faire par l'ovaire infesté (transovarier) comme on l'observe chez certaines microsporidies, telles que *Nosema kingi* chez les drosophilidés (Armstrong, 1976) et l'espèce *Thelohania* chez les moustiques (Kellen et coll., 1965). Chez le ver à soie, on rapporte que *N. bombycis* transmet l'infestation par l'oeuf (Masera, 1938) et par transmission transovarienne (Han et Watanabe, 1988). Ramagowda et Geethabai (2005) ont aussi démontré la transmission transovarienne de *N. bombycis* chez *Diaphania pulverulentalis*. Le taux de transmission transovarienne de l'infestation NIK-5hm est comparativement plus bas que le taux de transmission par *N. bombycis*. Aucune transmission de la microsporidie NIK-5hm ou de *N. bombycis*

ne se produit à la descendance chez les croisements femelle saine × mâle infesté, ce qui indique qu'il n'y a pas de mécanisme d'action vénérien chez aucune des deux microsporidies. Seul le papillon femelle transmet l'infestation et le papillon mâle ne le fait pas. Le taux de transmission de NIK-5hm par les papillons femelles à la descendance est de 81,67 % et 81,33 %. Cependant, le taux de transmission transovarienne par *N. bombycis* à la descendance est de 100 %. Ishihara et Fujiwara (1965) ; Han et Watanabe (1988) ; Baig (1994) et Ananthalakshmi et coll., (1994) ont obtenu un résultat similaire pour *N. bombycis* chez le ver à soie. On a aussi rapporté un taux de transmission différent des différentes microsporidies à la descendance chez le ver à soie. On a rapporté que le taux de transmission de l'espèce NIK-3h de *Nosema* et l'espèce M11 de *Nosema* est faible et l'infestation ne se transmet respectivement à la descendance qu'à seulement $1,80 \pm 0,4$ % et $1,2 \pm 0,41$ % (Han et Watanabe, 1988 ; Ananthalakshmi et coll., 1994). Cependant, les souches standards *N. bombycis* et l'espèce NIK-2 de *Nosema* transmettent l'infestation à 100 % (Han et Watanabe, 1988 ; Ananthalakshmi et coll., 1994), tandis que les microsporidies telles que l'espèce NIS-M12, NIK-4m de *Vairimorpha*, l'espèce NIS-M25 de *Microsporidium*, l'espèce NIS-N27 de *Pleistophora* et l'espèce NIS-M32 de *Thelohania* ne transmettent pas du tout l'infestation à la descendance (Kawarabata, 2003 ; Singh et Saratchandra, 2003).

En plus de l'infectiosité, de la transmission horizontale et verticale élevées, l'infestation par NIK-5hm a un impact significatif sur les paramètres économiques du ver à soie. Une comparaison du poids du cocon, du poids de la coque et de la richesse soyeuse avec le témoin sain (1,68 g ; 0,395 g et 23,51 %) indique qu'ils sont significativement plus bas avec NIK-5hm (respectivement 1,34 g ; 0,289 g et 21,57 %). Quand on les compare avec *N. bombycis*, le poids du cocon (1,42 g) et le poids de la coque (0,306 g) s'avèrent significativement plus bas et il y a une différence non significative pour le % de RS (21,55 %).

INPUT OUTPUT RELATIONSHIP IN SERICULTURE IN KARNATAKA –AN ECONOMIC ANALYSIS

RAVEENDRA MATTIGATTI^{1*}, B. P. VEERABHADRAPPA² & C. K. RENUKARYA³

1. Scientist-C, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore

2. Reader and Head, Dept. of Studies in Economics, Kuvempu University PG Centre, Davanagere.

3. Professor of Economics and Director, Mahajana PG Centre, University of Mysore.

The present study was conducted to estimate the input-output relationship in sericulture in Karnataka State of India. Path coefficient analysis was adopted to assess the direct and indirect association between different inputs and the yield for both mulberry and silkworm rearing (cocoon production). The study revealed that there was a yield gap of 53.70 per cent in sericulture. The yield gap in mulberry leaf production was higher (47.46 per cent) than in silkworm rearing and cocoon production (14.46 per cent). The gap was not only due to sub-optimal use of different inputs but also the inputs are not being used in proper combination. For production of good quality and quantity of leaf more organic manures and better maintenance of garden by employing more labour apart from use of inorganic fertilizers (N, P and K) in proper combination is required to bridge the gap between the research yield and the farmer yield. In the case of silkworm rearing good quality leaf and proper maintenance of hygiene (use of disinfection and bed disinfection chemicals) with sufficient rearing space and effective labour would boost the present level of production to the level potential research yield.

Keywords: Yield gap, input-output relationship, path coefficient analysis.

India is the second largest producer of silk (15,445 MT, 2005) in the world next only to China (93,100 MT, 2005). Karnataka is the leading sericulture state which contributes around 50% of the total silk production in India. Sericulture involves cultivation of mulberry and rearing of silkworm to produce silk cocoons. The silkworm crop requires around one month time from preparation (cleaning of rearing house), brushing of silkworm eggs and till the harvest of the cocoons. The climatic conditions of Karnataka favour sericulture throughout the year. Hence, there will be regular crops throughout the year. Farmers take upto 12 crops (single rearing house) in a year. Sericulture is a labour intensive activity which requires constant attention and monitoring of crops throughout the year. Silkworm is sensitive to climatic changes and suffers from different diseases. The research and development in sericulture has provided high yielding mulberry variety (V-1) and potential silkworm hybrids (both multivoltine and bivoltine hybrids) to the farmers. These new mulberry and silkworm hybrids respond well to increased use of inputs to reach the potential yield levels. The farmers even though getting better yield levels using potential high yielding varieties and races compared to traditional varieties and races of mulberry and silkworm, are far away from the potential yield levels of the new hybrids as declared by the research results. The present study aims at understanding the input-output gap and the direct and indirect relationship between different inputs and output in both mulberry and silkworm rearing to attain the potential yield levels in sericulture.

* This is part of the Ph.D. work carried out by the first author under the guidance of the remaining authors.

METHODOLOGY

The study was conducted in Karnataka state by collecting data from the 120 sample farmers. Stratified random sampling was adopted for selection of sample farmers. Two districts in traditional belt and two districts in non-traditional belt of Karnataka State having highest area under mulberry were selected. Thus, four districts viz., Kolar, Mandya, Chitradurga and Belgaum were selected for the study. Two taluks from each of the district having higher area under mulberry were selected. A total of eight taluks were selected. From each of these selected taluks, 30 farmers were selected at random. A minimum of 3 villages per taluk were covered depending on the density of the farmers in the taluk. Primary data were collected from the 120 selected farmers through pretested questionnaire. Path Coefficient Analysis was used as an analytical tool for delineating the direct and indirect relationship between different inputs (X_i s) and the output in both mulberry leaf production and cocoon production (Y_L and Y_C).

$$Y_L = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$$

Where, Y_L = Leaf Yield in Kgs. / hectare /year.

X_1 = Cost of Farm Yard Manure (FYM) per hectare per year.

X_2 = Cost of Nitrogen (N) hectare per year.

X_3 = Cost of Phosphorus (P) per hectares per year.

X_4 = Cost of Potash (K) per ha per year.

X_5 = Cost of labour per hectare per year.

R = Residual Effect.

$$Y_C = f(X_{C1}, X_{C2}, X_{C3}, X_{C4}, X_{C5})$$

Where, Y_C = Cocoon Yield (multivoltine equivalent) in kgs per hectare per year.

X_1 = Leaf Yield in Kgs. / hectare /year.

X_2 = Cost of disinfection chemicals / 100 DFLs.

X_3 = Cost of bed disinfectants per 100 DFLs.

X_4 = Rearing space (floor space in sq. feet) per 100 DFLs.

X_5 = Cost of labour per 100 DFLs.

R = Residual Effect.

The association between the dependent and independent variables under path co-efficient analysis is presented pictorially in Fig.1

Correlation coefficients between dependent and independent variables (r_{yi}) and the inter-correlation between different independent variables (r_{ij}) were calculated and the relationship is established as follows.

$$r_{y1} = r_{11}P_{y1} + r_{12}P_{y2} + r_{13}P_{y3} + r_{14}P_{y4} + r_{15}P_{y5} \dots\dots\dots(1)$$

$$r_{y2} = r_{21}P_{y1} + r_{22}P_{y2} + r_{23}P_{y3} + r_{24}P_{y4} + r_{25}P_{y5} \dots\dots\dots(2)$$

$$r_{y3} = r_{31}P_{y1} + r_{32}P_{y2} + r_{33}P_{y3} + r_{34}P_{y4} + r_{35}P_{y5} \dots\dots\dots(3)$$

$$r_{y4} = r_{41}P_{y1} + r_{42}P_{y2} + r_{43}P_{y3} + r_{44}P_{y4} + r_{45}P_{y5} \dots\dots\dots(4)$$

$$r_{y5} = r_{51}P_{y1} + r_{52}P_{y2} + r_{53}P_{y3} + r_{54}P_{y4} + r_{55}P_{y5} \dots\dots\dots(5)$$

Where,

P_{yi} ($i=1\dots5$) = Path coefficients of X_i ($i=1\dots5$)

r_{yi} ($i=1\dots5$) = Correlation coefficients of Y with respect to X_i ($i=1\dots5$)

r_{ij} ($i=1\dots5, j=1\dots5$) = Correlation Coefficients of X_i & X_j

The generalized formula for the above set of equations may be written as

$$r_{yj} = \sum r_{ij} \cdot P_{yi} \quad (i = 1 \dots 5, j = 1 \dots 5)$$

The term $r_{yj} \cdot P_{yi}$ represents the direct effect when $i=j$ and indirect effects of i^{th} variable when $i \neq j$. The unexplained (residual) variance (P_{RY}) not accounted for by the included variable is obtained by the following formula.

$$P_{RY} = \sqrt{1 - R^2}$$

where $R^2 = \sum P_{yi}^2 (i = 1 \dots 5) + \sum P_{yi} \cdot P_{yj} \cdot r_{ij} (i = 1 \dots 5, j = 1 \dots 5 \text{ where } i \neq j)$

RESULTS

The input-output gap of mulberry leaf production and silk cocoon production is presented in Table I. The Table compares the yield gap in mulberry as well as cocoon production and the gap in the input used between the research and the farmers' field. The major inputs in mulberry production are the inorganic fertilizers like Nitrogen (N), Phosphorous (P) and Potash (K), organic manures / farm yard manures (FYM) and labour. In the case of silk worm the inputs are the leaf, disinfection chemicals (Chlorine Di Oxide, Bleaching Powder and lime powder), bed disinfection chemicals and labour. It can be observed that the average application of chemical fertilizers N, P and K to the farmers fields were comparatively lesser than the research recommendations. Further, the proportion of N, P and K are not on par with the proportion recommended, as indicated by the disproportionate percentage gap (54.6, 37.06 and 22.75 per cent respectively). Use of nitrogen is very less compared to the recommendations (45.40 per cent). Application of FYM is on par with the recommended. Labour is being used 30 per cent less than recommended (25 MT). It has been observed that farmers avoid a lot of cultural practices like cleaning, pruning of side shoots, plucking of unhealthy leaves etc. which demands more labour. Further, the timely supply of labour is a major problem for the villagers. Sub-optimal use of inputs in mulberry cultivation has resulted in the mulberry leaf yield which is almost 50 per cent of the potential yield of 70 MT per hectare per year.

The input-output gap in silkworm rearing indicated in Table I reveals that both the disinfection chemicals (Chlorine-di-oxide, Bleaching Powder, Lime powder) and bed disinfection chemicals are being used almost 50 per cent less than recommended except the lime powder which is utilized on par with recommendations. Rearing space has been 21.40 per cent more than recommended and labour is also being used 43.19 per cent more than research estimations. Higher use of labour than recommended may be because of the fact that most of the rearings are taken up in and around the dwelling houses and the family women labour is involved in rearing who take care of rearing along with other activities. Hence, it can be inferred that the labour is underutilized in silkworm rearing. The suboptimal use of inputs both in mulberry as well as in silkworm resulted in almost 53.7 per cent less than the optimal cocoon production per hectare of mulberry. The yield gap is higher in mulberry productivity (47.46 per cent). Cocoon productivity which mainly depends on rearing inputs showed a gap of 14.46 per cent.

Table I. Input- Output gap in sericulture in Karnataka.

Tableau I. Ecart intrant – production dans la sériciculture au Karnataka.

PARTICULARS	Research	Farmer Field	Gap	% Gap
PARAMETRES	Recherche	Terrains des fermiers	Ecart	% d'écart
MULBERRY CULTIVATION / CULTURE DU MURIER				
Input Parameters / Intrants				
Nitrogen (N) Kg/ha/year / Azote (N) kg / ha / an	350	158.91	191.09	54.60
Phosphorous (P) Kg/ha/year / Phosphore (P) kg / ha / an	140	88.12	51.88	37.06
Potash (K) Kg/ha/year / Potassium (K) kg / ha / an	140	108.15	31.85	22.75
FYM t / ha / year / Fumier t / ha / an	25	26.73	-1.73	-6.92
Labour (Mandays) / Main d'oeuvre (jours de travail)	698	487.76	210.24	30.12
Output Parameter / Paramètres de production				
Leaf Yield / Rendement foliaire	70	36.78	33.22	47.46
SILKWORM REARING / ELEVAGE DU VER A SOIE				
Input Parameters / Intrants				
Chlorine Dioxide / Dioxyde de chlore	2.5	1.28	1.22	48.67
Bleaching Powder / Chlorure de chaux	4	1.89	2.11	52.87
Lime Powder / Poudre de chaux	25	23.89	1.11	4.44
Vijetha, A/B Powder / Vijetha, Poudre A/B	5	2.31	2.69	53.83
Rearing Space Sq.ft. / Espace d'élevage (pieds carrés)	400	485.59	-85.59	-21.40
Labour / Main d'oeuvre	28	40.09	-12.09	-43.19
Output Parameter / Paramètres de production				
Cocoons Kg./100 DFLs / Cocons kg / 100 pontes saines	70	59.88	10.12	14.46
Cocoons Kg./ha/year / Cocons kg / ha / an	3500	1621	1879.50	53.70

Direct and indirect effects of different inputs in mulberry leaf production:

In order to study the interrelationship between important inputs and the output (Yield) path coefficient analysis was carried out. The results of the path coefficient analysis indicating the direct and indirect effects of different inputs in mulberry leaf production are presented in Table II. The total effect of FYM is highest as indicated by the highest correlation coefficient with yield (0.726) compared to other inputs followed by Labour (0.599). The inputs N, P and K have similar correlation coefficients with insignificant differences. Further, FYM (78.08 per cent) has the highest direct effect followed by Labour (69.08 per cent). The inputs N, P and K are having higher indirect effects

compared to their direct effects. The indirect effects are more among N, P and K themselves, indicating that these inputs perform better in proper combination. FYM being a wholesome input works more independently and effectively as it is having most of the nutrients required for the plant growth in proper proportions. Hence, application of FYM and other organic manures is highly desirable for the growth of quality mulberry leaf. The inorganic fertilizers N, P and K need to be applied whenever and wherever there is non-availability of organic manures. Mulberry cultivation responds more directly to the human labour (69.08 per cent). The indirect effect is mainly through the application of FYM. Similarly, FYM is having indirect effect on labour productivity. Hence, increased application of FYM invites more labour for its application and the problems of weed that arise out of application of FYM.

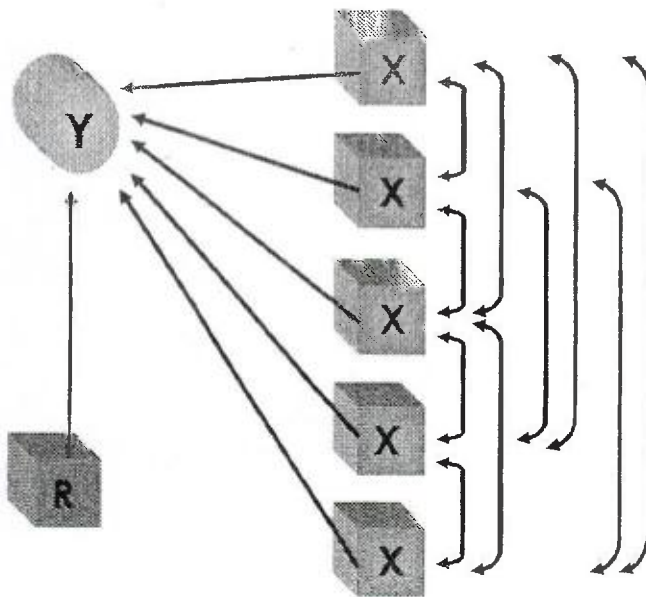


Fig. 1. Path coefficient analysis model indicating the direct and indirect effects of inputs (X_i) on yield (Y).

Fig. 1. Modèle d'analyse du coefficient de trajet indiquant les effets directs et indirects des intrants (X_i) sur le rendement (Y).

Direct and indirect effects of different inputs in Cocoon Production:

The direct and indirect effects of different inputs on silk cocoon production as a result of path coefficient analysis are presented in Table III. In the case of cocoon production, the bed disinfection chemicals are having higher total effect followed by rearing space and labour as indicated by the correlation coefficients (total effect). Apart from that they have higher direct effect (106.89 per cent, 91.63 per cent and 76.40 per cent respectively). Disinfection chemicals have direct effect of 60.40 per cent. The bed disinfectant chemicals have negative indirect effect especially through rearing space (7.95 per cent) and labour (4.38 per cent). Similarly, rearing space and labour have negative indirect effects (12.76 and 9.38 per cent respectively) through the bed disinfectant chemicals. Further, disinfection chemicals also express higher negative indirect effect through rearing space (31.07 per cent). Increase in rearing space reduces the effect of disinfection chemicals to a greater and bed disinfection chemicals to some extent.

Table II. Direct and indirect effect of different inputs in mulberry leaf production.

Tableau II. Effet direct et indirect des différents intrants dans la production de feuilles de mûrier.

Input Parameters <i>Intrants</i>			Direct and Indirect Effect				
	Total Effect	Tot. Indirect Effect	N	P	K	FYM	Labour
	<i>Effet total</i>	<i>Ensemble des effets indirects</i>	<i>Effets directs et indirects</i>				
			N	P	K	<i>Fumier</i>	<i>Main d'oeuvre</i>
Nitrogen <i>Azote</i>	0.469 (100.00)	0.292 (62.25)	0.177 (37.75)	0.113 (24.06)	0.030 (6.32)	0.061 (12.95)	0.089 (18.92)
Phosphorous <i>Phosphore</i>	0.456 (100.00)	0.269 (58.89)	0.106 (23.32)	0.188 (41.11)	0.050 (10.87)	0.090 (19.81)	0.022 (4.89)
Potash <i>Potassium</i>	0.419 (100.00)	0.333 (79.55)	0.061 (14.61)	0.109 (25.94)	0.086 (20.45)	0.115 (27.42)	0.048 (11.58)
FYM <i>Fumier</i>	0.726 (100.00)	0.159 (21.92)	0.019 (2.61)	0.030 (4.12)	0.017 (2.39)	0.566 (78.08)	0.093 (12.80)
Labour <i>Main d'oeuvre</i>	0.599 (100.00)	0.185 (30.92)	0.038 (6.33)	0.010 (1.69)	0.010 (1.68)	0.127 (21.22)	0.414 (69.08)
Residual <i>Reste</i>	0.370						

Note: 1. Figures in the parentheses indicate percentage of the total effect. / *Les chiffres entre parenthèses indiquent le pourcentage de l'effet total*

2. Highlighted diagonal figures indicate direct effect / *Les chiffres en gras en diagonale indiquent l'effet direct.*

Hence, the quantity of disinfection and bed disinfection chemicals has to be decided not only on the number of worms but also on the rearing space provided. As per the analysis the Labour and the disinfection chemicals have negative indirect effects but the quantum of the effect is lesser. The indirect effect of labour is more in relation with the rearing space (31.77 per cent) and vice versa (23.82 per cent). Thus, the labour also has to be used in proper combination with the rearing space. Leaf is being sufficiently fed to the silkworm by the farmers and the variable leaf in this analysis mainly acts qualitatively (Assuming that higher productivity of leaf per hectare is due to higher inputs which will also enhance the quality leaf). The direct effect of leaf is very less i.e. 11.58 per cent only. Better quality of leaf would be the prime factor which improves the immunity of silkworm towards disease and hence increases the response to disinfection chemicals and other inputs as indicated by the higher indirect effects (88.42 per cent).

Table III. Direct and indirect effect of different inputs in cocoon production.

Tableau III. Effet direct et indirect des différents intrants dans la production de cocons.

Input Parameters	Direct and indirect effects						
	Total Effect	Total Indirect Effects	Leaf Yield	Disinfection Chemicals	Bed Disinfection chemicals	Rearing Space	Labour
<i>Effets directs et indirects</i>							
<i>Intrants</i>	<i>Effet total</i>	<i>Ensemble des effets indirects</i>	<i>Rendement foliaire</i>	<i>Produits chimiques de désinfection</i>	<i>Désinfectants de litière</i>	<i>Espace d'élevage</i>	<i>Main d'oeuvre</i>
Leaf Yield <i>Rendement foliaire</i>	0.315 (100.00)	0.279 (88.42)	0.037 (11.58)	0.026 (8.14)	0.147 (46.61)	0.028 (8.80)	0.078 (24.87)
Disinfection Chemicals <i>Désinfectants chimiques</i>	0.211 (100.00)	0.084 (39.60)	0.007 (3.48)	0.128 (60.40)	0.145 (68.64)	-0.066 (-31.07)	-0.003 (-1.45)
Bed Disinfection Chemicals <i>Désinfectants de litière</i>	0.641 (100.00)	-0.044 (-6.89)	0.008 (1.22)	0.027 (4.21)	0.685 (106.89)	-0.051 (-7.95)	-0.028 (-4.38)
Rearing Space <i>Espace d'élevage</i>	0.546 (100.00)	0.046 (8.37)	0.002 (0.37)	-0.017 (-3.06)	-0.070 (-12.76)	0.501 (91.63)	0.130 (23.82)
Labour <i>Main d'oeuvre</i>	0.518 (100.00)	0.122 (23.60)	0.007 (1.40)	-0.001 (-0.19)	-0.049 (-9.38)	0.165 (31.77)	0.396 (76.40)
Residual / Reste	0.210						

Note: 1. Figures in the parentheses indicate percentage of the total / Les chiffres entre parenthèses indiquent le pourcentage de l'ensemble.

2. Highlighted diagonal figures indicate direct effect / Les chiffres en gras en diagonale indiquent l'effet direct.

SUMMARY AND CONCLUSION

The study conducted to assess the input-output gap and the relationship using path coefficient analysis indicates that there exists an overall yield gap of 53.70 per cent in sericulture (cocoon yield levels per hectare per year). The gap is higher in mulberry leaf production (47.46 per cent) compared to cocoon productivity per 100 DFLs (14.46 per cent). Sub-optimal use of inputs coupled with improper combination of the inputs is the main cause for the gap. In the case of mulberry N, P and K are being used disproportionately less than the recommended. They work more in combination as indicated by the higher indirect effects among themselves than their direct effects. Even though FYM is being applied as per recommendations, the informal discussions, observations and research experience of the authors indicate that the silkworm fed with organically grown mulberry has the higher immunity and leaf conversion efficiency. This calls for additional use of organic manures (like

FYM) which has higher direct impact on both quantity and quality mulberry leaf production in lieu of proportionate doses of N, P and K. Additional use of organic manures like FYM has higher direct effect on mulberry production which also reduces the complexity of proper combination of N, P and K. Inorganic fertilizers (N, P and K) need to be used when sufficient quantities of organic manures are not available. Further, for efficient utilization of manures and fertilizers, the garden needs to be well managed especially weed free and culling of side shoots with support of sufficient labour. In the present study the sub-optimal use of labour is due to the lack of such operation and the timely availability of labour is the major problem for the farmers.

The sub-optimal use of rearing inputs (almost 50 per cent) in silkworm rearing has affected the cocoon productivity to the extent of 14.46 per cent. Good quality leaf, use of proper and sufficient quantity of bed disinfection chemicals with better rearing space and efficient labour would increase the productivity of cocoons. The use of disinfection chemicals is also very important before starting any rearing. The disinfection chemicals and bed disinfection chemicals needs to be used more than recommended in relation with the higher rearing space provided by the farmers in order to achieve potential yield. Increased rearing space indicates increased efficiency of labour and labour needs to be used in proper proportion with the rearing space.

Thus, it can be concluded that the inputs both in mulberry as well as silk worm need to be applied in proper proportions. Application of more FYM or organic manures is highly desirable in lieu of inorganic fertilizers and the garden should be maintained well for proper absorption of nutrients and production of quality mulberry leaf. Quality mulberry leaf along with recommended disinfection and bed disinfection chemicals in proportion to the rearing space would bring good cocoon crop yield. The efficiency of labour in the case of silkworm rearing is to be looked into.

REFERENCES

- BASAVARAJA, H., HIREMATH, K. C., SRINIVASA GOWDA, M. V. & SHANAKARA MURTHY H. G. (1989) "Gap in attainable cotton productivity in Karnataka – An Economic Analysis" *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* 2 (4):303-308.
- SINGH, R. K. & CHAUDHARY, B. D. (1975) "*Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis*", Kalyani Publications, New Delhi. :70-79.
- RAVEENDRA MATTIGATTI & IYENGAR, M. N. S. (1994) " Role of different agricultural enterprises in agri-business with special reference to sericulture" *Indian Journal of Sericulture*, 33 (2):163-165.
- RAVEENDRA MATTIGATTI & JAYARAM, H. (1993) "Direct and indirect effects of factors of milk production" *Indian Dairyman*, 45 (8):357-360.

ANALYSE ECONOMIQUE SUR LA RELATION FACTEUR DE PRODUCTION - PRODUCTION EN SERICICULTURE AU KARNATAKA

RAVEENDRA MATTIGATTI*, B. P. VEERABHADRAPPA² 1 C. K. RENUKARYA³

1. Scientist-C, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.
2. Maître de Conférence et Chef de Département, Dept. of Studies in Economics, Kuvempu University PG Centre, Davanagere, Inde.
3. Professeur d'Economie and Directeur, Mahajana PG Centre, University of Mysore, Inde.

Cette étude a été réalisée pour évaluer la relation facteur de production – production en sériciculture dans l'état du Karnataka en Inde. On adopte l'analyse de coefficient des trajets pour évaluer l'association directe et indirecte entre les différents intrants et le rendement, à la fois pour le mûrier et pour l'élevage du ver à soie (production de cocons). L'étude révèle qu'il y a un écart de rendement de 53,70 % en sériciculture. L'écart de rendement en matière de production de feuilles de mûrier est plus élevé (47,46 %) que pour l'élevage du ver à soie et pour la production de cocons (14,46 %). L'écart n'est pas seulement dû à l'utilisation sous-optimale des différents intrants mais aussi au fait que les intrants ne sont pas correctement utilisés en combinaison. Pour la production de feuilles de bonne qualité et en quantité, il faut plus d'engrais organiques et un meilleur entretien de la muraie, en employant plus de main d'œuvre et il faut également utiliser correctement les combinaisons d'engrais non organiques (N, P et K), pour atténuer l'écart entre le rendement à l'échelle de la recherche et le rendement du fermier. Dans le cas de l'élevage du ver à soie, la feuille de bonne qualité, le maintien correct de conditions d'hygiène (utilisation de produits chimiques de désinfection et de désinfection de litière) avec suffisamment d'espace d'élevage et de main d'œuvre efficace augmenteraient le niveau actuel de production au niveau du potentiel scientifique de rendement.

L'Inde est le deuxième plus grand producteur de soie (15 445 t, 2005) dans le monde, après la Chine (93 100 t, 2005). Le Karnataka est le premier Etat séricicole qui contribue à environ 50 % de la production totale de soie en Inde. La sériciculture implique la culture du mûrier et l'élevage du ver à soie pour produire des cocons. L'élevage du ver à soie a besoin d'un délai d'environ un mois entre la préparation (nettoyage de la magnanerie), la levée des œufs de ver à soie jusqu'à la récolte des cocons. Les conditions climatiques du Karnataka favorisent la sériciculture tout au long de l'année. Il y a donc des récoltes régulières tout au long de l'année. Les fermiers entreprennent jusqu'à 12 récoltes par an. La sériciculture est une activité à main d'œuvre intensive, qui nécessite une attention et une surveillance constantes des récoltes pendant toute l'année. Le ver à soie est sensible aux changements climatiques et souffre de différentes maladies. La recherche et le développement en sériciculture ont aussi fourni une variété de mûrier à rendement élevé (V-1) et des hybrides du ver à soie (des hybrides à la fois polyvoltins et bivoltins) aux fermiers. Ces nouveaux hybrides du mûrier et du ver à soie répondent bien à l'augmentation de l'utilisation des intrants pour atteindre des niveaux de rendement importants. Les fermiers bien qu'ils obtiennent de meilleurs niveaux de rendement en utilisant des variétés et des races au potentiel de rendement élevé, par comparaison aux variétés et aux races traditionnelles de mûrier et de ver à soie, sont loin des niveaux de rendement potentiels des

* Fait partie du travail de doctorat réalisé par le premier auteur, sur les conseils des autres auteurs.

nouveaux hybrides, d'après les résultats de recherche. Cette étude a pour but de comprendre l'écart de production et la relation directe et indirecte entre les différents intrants et la production à la fois dans la culture du mûrier et dans l'élevage du ver à soie, pour obtenir les niveaux de rendement potentiel en sériciculture.

METHODOLOGIE

On a réalisé l'étude dans l'Etat du Karnataka en recueillant les données auprès de 120 fermiers échantillons. On adopte un échantillonnage aléatoire stratifié pour la sélection des fermiers échantillons. On sélectionne deux endroits dans la zone traditionnelle et deux endroits dans la zone non traditionnelle dans l'état du Karnataka, qui ont la plus grande surface de culture du mûrier. On sélectionne donc quatre districts pour l'étude, c'est-à-dire Kolar, Mandya, Chitradurga et Belgaum. On sélectionne deux taluks dans chaque district qui ont la surface la plus importante de culture du mûrier. Un ensemble de huit taluks est sélectionné. On sélectionne 30 fermiers de manière aléatoire dans chacun de ces taluks. Il y a un minimum de 3 villages dans chaque taluk, en fonction de la densité des fermiers dans le taluk. On recueille les données primaires auprès des 120 fermiers sélectionnés grâce à un questionnaire prétesté. On utilise l'analyse de coefficient de trajet comme outil analytique pour déterminer la relation directe et indirecte entre les différents intrants (X_i) et la production, à la fois pour la production de feuilles de mûrier et pour la production de cocons (Y_L et Y_C).

$$Y_L = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$$

Où Y_L = Rendement foliaire en kg / hectare par an

X_1 = Coût du Fumier (FYM) par hectare par an

X_2 = Coût de l'azote (N) par hectare par an

X_3 = Coût du phosphore (P) par hectare par an

X_4 = Coût du potasse (K) par ha par an

X_5 = Coût de la main d'œuvre par hectare par an

R = Effet résiduel

$$Y_C = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$$

Où Y_C = Rendement en cocons (équivalent polyvoltin) en kg par hectare par an

X_1 = Rendement foliaire en kg / hectare / an

X_2 = Coût des produits chimiques de désinfection / 100 pontes saines

X_3 = Coût des désinfectants de litière pour 100 pontes saines

X_4 = Espace d'élevage (espace au sol en pieds carrés) pour 100 pontes saines

X_5 = Coût de la main d'œuvre pour 100 pontes saines

R = Effet résiduel

L'association entre les variables dépendantes et indépendantes avec l'analyse du coefficient de trajet est présentée de manière schématique dans la figure 1.

On calcule les coefficients de corrélation entre les variables dépendantes et indépendantes (r_{yi}) et l'inter-corrélation entre les différentes variables indépendantes (r_{yi}) et la relation s'établit comme suit :

$$r_{y1} = r_{11}P_{y1} + r_{12}P_{y2} + r_{13}P_{y3} + r_{14}P_{y4} + r_{15}P_{y5} \dots\dots\dots(1)$$

$$r_{y2} = r_{21}P_{y1} + r_{22}P_{y2} + r_{23}P_{y3} + r_{24}P_{y4} + r_{25}P_{y5} \dots\dots\dots(2)$$

$$r_{y3} = r_{31}P_{y1} + r_{32}P_{y2} + r_{33}P_{y3} + r_{34}P_{y4} + r_{35}P_{y5} \dots\dots\dots(3)$$

$$r_{y4} = r_{41}P_{y1} + r_{42}P_{y2} + r_{43}P_{y3} + r_{44}P_{y4} + r_{45}P_{y5} \dots\dots\dots(4)$$

$$r_{y5} = r_{51}P_{y1} + r_{52}P_{y2} + r_{53}P_{y3} + r_{54}P_{y4} + r_{55}P_{y5} \dots\dots\dots(5)$$

Où

P_{yi} ($i = 1 \dots 5$) = Coefficients de trajet d' X_i ($i = 1 \dots 5$)

r_{yi} ($i = 1 \dots 5$) = Coefficients de corrélation de Y par rapport à X_i ($i = 1 \dots 5$)

r_{ij} ($i = 1 \dots 5, j = 1 \dots 5$) = Coefficients de corrélation de X_i et de X_j

On peut écrire la formule généralisée pour le lot d'équations ci-dessus comme suit :

$$r_{yj} = \sum r_{ij} \cdot P_{yi} \quad (i = 1 \dots 5, j = 1 \dots 5)$$

Le terme $r_{yj} \cdot P_{yi}$ représente l'effet direct quand $i = j$ et les effets indirects de la i ème variable quand $i \neq j$. On obtient la variance (résiduelle) inexpliquée (P_{RY}) non représentée par la variable incluse selon la formule suivante.

$$P_{RY} = \sqrt{1 - R^2}$$

$$\text{Où } R^2 = \sum P_{yi}^2 (i \dots 5) + \sum P_{yi} \cdot P_{yj} \cdot r_{ij} (i = 1 \dots 5, j = 1 \dots 5 \text{ où } i \neq j)$$

RESULTATS

L'écart intrants – sortants pour la production de feuilles de mûrier et pour la production de cocons est présenté dans le Tableau I. Le Tableau compare l'écart de rendement pour la production de mûriers et de cocons et l'écart pour le facteur de production utilisé, entre les résultats de la recherche et ceux du terrain. Les principaux intrants dans la production de mûrier sont les engrais inorganiques comme l'azote (N), le phosphore (P) et le potasse (K), les engrais organiques / le fumier (FYM) et la main d'œuvre. Dans le cas du ver à soie, les intrants sont les feuilles, les produits chimiques désinfectants (dioxyde de chlore, chlorure de chaux et poudre de chaux), les désinfectants chimiques de litière et la main d'œuvre. On peut observer que l'application moyenne d'engrais chimiques N, P et K dans les terrains des fermiers est comparativement moins importante que les recommandations des chercheurs. Par ailleurs, les proportions de N, P et K ne sont pas égales aux proportions recommandées, comme l'indique l'écart disproportionné en pourcentage (respectivement 54,6 ; 37,06 et 22,75 %). L'utilisation d'azote est très inférieure par rapport aux recommandations (45,40 %). L'application de fumier est à égalité avec les recommandations (25 t). La main d'œuvre est utilisée 30 % moins que les recommandations. On a observé que les fermiers évitent beaucoup les pratiques culturales comme le nettoyage, la taille des pousses latérales, le retrait des feuilles malsaines, etc., qui demandent plus de main d'œuvre. Par ailleurs, la disposition de main d'œuvre en temps voulu est un problème principal pour les villageois. L'utilisation sous-optimale d'intrants dans la culture du mûrier a entraîné un rendement foliaire en mûrier, qui représente presque 50 % du rendement potentiel de 70 t par hectare par an.

L'écart facteur de production – production dans l'élevage du ver à soie indiqué dans le Tableau I montre que les produits chimiques de désinfection (le dioxyde de chlore, le chlorure de chaux et la poudre de chaux) et les désinfectants chimiques de litière sont utilisés 50 % au-dessous des recommandations, sauf la poudre de chaux qui est utilisée à égalité avec les recommandations. On utilise l'espace d'élevage 21,40 % et la main d'œuvre 43,19 % au-dessus des estimations des chercheurs. L'utilisation de la main d'œuvre au-dessus des recommandations vient peut-être du fait que la plupart des élevages sont entrepris dans et autour de la maison d'habitation et la main d'œuvre des femmes de la famille est impliquée dans l'élevage, en s'en occupant avec d'autres activités. On peut donc en déduire que la main d'œuvre est sous utilisée dans l'élevage du ver à soie. L'utilisation sous-optimale des intrants à la fois avec le mûrier et avec le ver à soie entraîne une production de

cocons 53,7 % en dessous de la production optimale de cocons par hectare de mûrier. L'écart de rendement est plus important en matière de productivité du mûrier (47,46 %). La productivité en cocons qui dépend principalement des intrants d'élevage présente un écart de 14,46 %.

Effets directs et indirects des différents intrants dans la production de feuilles de mûrier :

Pour étudier l'interrelation entre les intrants importants et la production (Rendement), on procède à l'analyse du coefficient de trajet. Les résultats de l'analyse du coefficient de trajet indiquant les effets directs et indirects des différents intrants dans la production de feuilles de mûrier sont présentés dans le Tableau II. L'effet total du fumier est le plus élevé, comme l'indique le coefficient de corrélation avec le rendement (0,726) le plus élevé, par comparaison aux autres intrants, suivi par la main d'œuvre (0,599). Les intrants N, P et K ont des coefficients de corrélation similaires, avec des différences insignifiantes. Par ailleurs, le fumier (78,08 %) a l'effet direct le plus élevé, suivi par la main d'œuvre (69,08 %). Les intrants N, P et K ont des effets indirects plus élevés par comparaison à leurs effets directs. Les effets indirects sont plus importants avec N, P et K entre eux, ce qui indique que ces intrants ont de meilleures performances, lorsqu'ils sont correctement utilisés en combinaison. Le fumier étant un intrant sain, il agit de manière indépendante et efficacement, puisqu'il dispose de la plupart des nutriments nécessaires à la croissance de la plante en proportions correctes. L'application de fumier et d'autres engrais organiques est donc très souhaitable pour la croissance de la feuille de mûrier de qualité. Les engrais inorganiques N, P et K doivent être appliqués quand et là où on ne dispose pas d'engrais organiques. La culture du mûrier répond plus directement à la main d'œuvre humaine (69,08 %). L'effet indirect se fait principalement par l'application de fumier. De même, le fumier a un effet indirect sur la productivité de la main d'œuvre. L'augmentation de l'application de fumier nécessite donc plus de main d'œuvre pour son application et pour les problèmes de mauvaises herbes qui surviennent après l'application de fumier.

Effets directs et indirects des différents intrants dans la production de cocons :

Les effets directs et indirects des différents intrants sur la production de cocons, suite à l'analyse du coefficient de trajet sont présentés dans le Tableau III. Dans le cas de la production de cocons, le désinfectant chimique de litière a un effet total plus élevé suivi par l'espace d'élevage et par la main d'œuvre, comme l'indiquent les coefficients de corrélation (effet total). En plus de cela, il ont un effet direct plus élevé (respectivement 106,89 %, 91,63 % et 76,40 %). Le désinfectant chimique a un effet direct de 60,40 %. Le désinfectant chimique de litière a un effet négatif indirect, surtout par le biais de l'espace d'élevage (7,95 %) et de la main d'œuvre (4,38 %). De même, l'espace d'élevage et la main d'œuvre ont des effets négatifs indirects (respectivement 12,76 et 9,38 %) par le biais des désinfectants chimiques de litière. Par ailleurs, les désinfectants chimiques expriment aussi un effet indirect négatif plus élevé par le biais de l'espace d'élevage (31,07 %). L'augmentation de l'espace d'élevage diminue l'effet des désinfectants chimiques à un degré plus important et les désinfectants chimiques de litière à un certain degré.

La quantité de désinfectants chimiques et de désinfectants chimiques de litière doit donc être décidée non seulement en fonction du nombre de vers, mais aussi en fonction de l'espace d'élevage disponible. D'après l'analyse, la main d'œuvre et les désinfectants chimiques ont des effets négatifs indirects, mais l'importance de l'effet est moindre. L'effet indirect de la main d'œuvre a plus de relation avec l'espace d'élevage (31,77 %) et vice versa (23,82 %). La main d'œuvre doit donc aussi être utilisée en combinaison correcte avec l'espace d'élevage. Les éleveurs donnent suffisamment de feuilles aux vers à soie et la variable de la feuille dans cette analyse agit principalement de manière qualitative (en supposant que la productivité supérieure en feuilles par hectare soit due à des intrants plus élevés, qui amélioreront aussi la qualité de la feuille). L'effet direct de la feuille est beaucoup moins important, soit seulement 11,58 %. La feuille de meilleure qualité serait le principal facteur qui améliore l'immunité du ver à soie envers les maladies et qui augmente donc la réponse aux

désinfectants chimiques et aux autres intrants, comme le montrent les effets indirects plus élevés (88,42 %).

RESUME ET CONCLUSION

L'étude réalisée pour évaluer l'écart et la relation facteur de production – production en utilisant l'analyse du coefficient de trajet indique qu'il existe un écart de rendement global de 53,70 % en sériciculture (niveaux de rendement en cocons par hectare par année). L'écart est plus élevé pour la production de feuilles de mûrier (47,46 %) par comparaison à la productivité en cocons pour 100 pontes saines (14,46 %). L'utilisation sous-optimale des intrants associée à la combinaison incorrecte des intrants est la principale cause de l'écart. Dans le cas du mûrier, N, P et K sont utilisés disproportionnellement en dessous des recommandations. Ils agissent mieux en combinaison, comme l'indiquent les effets indirects plus élevés entre eux que leurs effets directs. Bien que le fumier soit appliqué d'après les recommandations, les discussions informelles, les observations et l'expérience de recherche des auteurs indiquent que le ver à soie nourri avec du mûrier cultivé biologiquement a une immunité et une efficacité de conversion plus élevées. Cela justifie une utilisation supplémentaire d'engrais organiques (comme le fumier), qui ont un impact direct plus élevé à la fois sur la quantité et sur la qualité de feuilles de mûrier produites à la place des doses proportionnelles de N, P et K. L'utilisation supplémentaire d'engrais organiques, comme le fumier, a un effet direct supérieur sur la production de mûrier, qui diminue aussi la complexité de l'application de la combinaison correcte de N, P et K. Les engrais inorganiques (N, P et K) doivent être utilisés quand on ne dispose pas de quantités suffisantes d'engrais organiques. Par ailleurs, pour une utilisation efficace des amendements et des engrais, la muraie doit être bien gérée surtout sans mauvaises herbes et en cueillant les pousses latérales avec l'aide de suffisamment de main d'œuvre. Dans cette étude, l'utilisation sous-optimale de la main d'œuvre est due au manque de ces opérations et la disposition de main d'œuvre en temps opportun est le principal problème des fermiers.

L'utilisation sous-optimale des intrants d'élevage (presque 50 %) dans l'élevage du ver à soie a affecté la productivité en cocons de l'ordre de 14,46 %. La feuille de bonne qualité, l'utilisation de désinfectants chimiques de litière corrects et en quantité suffisante, avec une main d'œuvre efficace augmenteront la productivité en cocons. L'utilisation des désinfectants chimiques est aussi très importante avant de commencer n'importe quel élevage. Les désinfectants chimiques et les désinfectants chimiques de litière doivent être utilisés au-dessus des recommandations par rapport à l'espace d'élevage plus grand dont disposent les fermiers, de manière à atteindre le rendement potentiel. L'augmentation de l'espace d'élevage indique l'augmentation de l'efficacité de la main d'œuvre et la main d'œuvre doit être utilisée correctement, proportionnellement à l'espace d'élevage.

On peut donc conclure que les intrants doivent être appliqués dans des proportions correctes à la fois avec le mûrier et avec le ver à soie. L'application de plus de fumier ou d'engrais organiques à la place des engrais inorganiques est très souhaitable et il faut bien entretenir la muraie pour une absorption correcte des nutriments et pour la production de feuilles de mûrier de qualité. L'utilisation de feuilles de mûrier de qualité avec les désinfectants chimiques et les désinfectants chimiques de litière recommandés en rapport avec l'espace d'élevage permettra un bon rendement en cocons lors des récoltes. Il faudrait aussi étudier l'efficacité de la main d'œuvre dans l'élevage du ver à soie.

OAK TASAR CHAWKI SILKWORM SUPPLY NEEDS POPULARIZATION

B. M. K. SINGH, R. N. DUTTA, SURESH RAI*, S. K. SINHA & N. B. VIJAY
PRAKASH

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

Research Extension Centre, Palampur, Himachal Pradesh served as Nodal seed supply centre for Oak tasar silk in North West region of India. Since the area is non-traditional for Oak tasar production, there is a lack of promising Oak tasar varieties and hence developments of high yielding varieties are on priority with matching management practices. Continued technology innovations are required to suit, different altitudes, host plants, improved breeds and seasons. In absence of all these, yield remains unpredictable. All the referred components are under the process of improvement and stabilization. Unpredictability greatly reduces the interest of farmers. Therefore, it was deemed fit to evaluate the role of chawki worm supply and its impact on yield and economic gain till the best suitable technologies are evolved. For this ten years chawki worm supply and cocoon yield data between 1991 to 2002 excluding 1994 & 2000, pertaining to Oak tasar farmers supplied with chawki larvae were statistically analyzed. The regression analysis was made using original data in order to standardize the number of larvae per disease free laying so that yield is predicted and farmer's income is pre-assessed to encourage them as also to suggest other contributing factors to enhance the output. It was observed that to harvest a minimum of 20 cocoons per dfl at farmer's level, chawki worm supply needs to be kept at 60 worms per dfl and to produce 30 or more cocoons /dfl it requires 100 no. of chawki larvae / dfl and this can be proportionately increased with the same rate of survival. The study has been made with the sole purpose of planning the Oak tasar development work on economically viable basis. The present study is one of the components of such basis. Improved feed, breed, seed, chawki rearing practices and late age rearing technologies will have the final say.

Keywords: Chawki worms, Oak tasar, regression analysis, and forecasting etc.

INTRODUCTION

Antheraea proylei J. a synthetic Oak tasar breed was introduced to Himachal Pradesh in North Western India 30 years before for systematic exploitation. *Quercus incana* and *Q. semicarpifolia* are two primary food plants which cover about 98% of Oak flora of the state. *Q. semicarpifolia* has the privilege of producing green and more succulent leaves having slower maturation rate in comparison to other Oak species and hence is preferred for large scale commercial as well as seed crop cocoon production. Need is felt to maximize the utilization of *Q. semicarpifolia* for higher cocoon production & productivity by adopting commercial rearing with chawki worms as the farmers were new to oak tasar culture. It was presumed that this may directly help the poor and marginal farmers so far dependent upon daily wages as they are going to have their own occupation. Farmers adopted for oak tasar rearing have been found to earn Rs. 500 to Rs. 4000 within 30 days of spring season during the years 1991 to 2002 of observation. The chawki rearing concept in oak tasar serves as a catalyst in adopting oak tasar culture as earning comes within a period of 28 to 38 days at low & high

* E.mail: sureshrai_1960@rediffmail.com

altitudes respectively and the farmers save 12 days required for chawki rearing and arrangement thereof. However in spite of supply of chawki larvae, average yield / dfl ranged from 10 cocoons to 27 cocoons per dfl requiring analysis of reason for such wide variation & enforcing measures to narrow down the gap so that productivity is increased and predictability is reliable. During the period of observation the performance remained inconsistent both in terms of no. of larvae supplied per dfl and harvest of cocoons per dfl. Hence the farmer is at the loser end as it has to pay fixed cost of dfls even though the no. of larvae / dfl is lower entailing poor yield. A fixed higher no. of larvae per dfl is bound to increase the return and this is the point where state govt. units, Central Silk Board units & Non Government Organization need to bring improvement in chawki rearing through technology improvement, its practice, better co-ordination, greater involvement and fixing the no. of chawki larvae per dfl at a higher level for distribution, use of suitable leaves, supply of area suitable races of indigenous and exotic origin.

Difference in rearing performance among different races of *Bombyx mori* was observed by Das *et al.* (1983) while Jayaramiah *et al.* (2000) found difference on account of foliar constituent. Pillai *et al.* (1985) evaluated mulberry leaves quality under different conditions resulting into difference in crop performance. Similarly Raja Ram *et al.* (2000) studied the effect of morphotypes of *Quercus semicarpifolia* on rearing of *Antheraea proylei* J. All pointing to the yield variation due to different biotic reasons per dfl but no study has been done to show the role of number of chawki larvae supplied in yield determination if all other variants are considered uniform. In this background the present investigation has been made. The findings are supposed to be utilized in fixing the norm of no. of worms / dfl and taking more care for utilizing varieties having higher fertility and improved chawki rearing practice and transport of larvae so that economics of rearing goes in favour of rearers.

MATERIALS AND METHODS

Ten years data between 1991- 2002, of cocoon yield & chawki larvae supplied to farmers by Research Extension Centre Palampur, which served as nodal centre for oak tasar seed supply in north western region of India was computed and analyzed for standardization of no. of chawki larvae per dfl to be supplied to farmers so as to optimize yield per dfl at farmers level and for comparison of performance. The data related with avg. no. of larvae per dfl & yield per dfl were tabulated based on simple calculation of percentage and average. The tabulated data were put to regression analysis to draw correlation between supplied chawki worms / dfl and yield of cocoon / dfl. From the regression analysis yield prediction was obtained.

RESULTS AND DISCUSSION

There has been much variation in income per farmer over the years corresponding to difference in yield per dfl. Average yield per adopted farmer of REC Palmpure ranged from 10 to 27 cocoons during 10 years of report whereas supply per dfl ranged from 16 to 55 larvae (supply of chawki worms is depicted in Table I). Data indicate that there is inconsistency in number of chawki worms supplied per dfl & yield of cocoons per dfl over the years under report. It is inferred that chawki worm rearing production is not standardized, the breed used is either different or within breed, differences are larger which ought to be made uniform and feed provided is not very suitable. However, recent observation made on experimental trial rearing performance on *Q. serrata* in Autumn crop at Bhimtal, Uttarakhand revealed consistency in yield recording of 26, 25 & 21 cocoons / dfl during 2001-2003; K.K. Sharma, *et al.* (2004). This proves the superiority of *Q. Serrata* and this can be one of the areas ventured for chawki rearing. C. Srinivas *et al.* 1992, has further stressed on the need of two crops per year and for this declared *Q. serrata* as the best host plant being deciduous in nature and having most of the sprouting activities between March to September suitable for rearing.

Table I. Year wise Oak Tasar Chawki worms supplied, Cocoon harvested per dfl and their growth indices - Based on 10 years data.

Tableau I. Fourniture de jeunes vers tasar du chêne, récolte de cocons par ponte saine et indices de croissance en fonction des années. D'après les données sur 10 ans.

Year	Regression analysis			Growth Index (base year: 1991)		
	No. of chawki larvae supplied / dfl (X)	Yield / dfl (Y)	Estimated Yield / dfl	No. of dfl supplied	No. of chawki larvae supplied / dfl	Yield / dfl
	<i>Analyse de régression</i>			<i>Indice de croissance (année de référence : 1991)</i>		
<i>Année</i>	<i>Nbre de jeunes larves fournies / ponte saine (X)</i>	<i>Rendement / ponte saine (Y)</i>	<i>Estimation de rendement / ponte saine</i>	<i>Nbre de pontes saines fournies</i>	<i>Nbre de jeunes larves fournies / ponte saine</i>	<i>Rendement / ponte saine</i>
1991	30.04	25.85	16.84	100.00	100.00	100.00
1992	27.42	10.03	16.35	417.88	91.28	38.80
1993	16.51	12.22	14.31	241.46	54.96	47.27
1995	34.23	21.69	17.63	89.22	113.95	83.91
1996	39.52	16.16	18.62	301.03	131.56	62.51
1997	51.30	15.53	20.82	384.35	170.77	60.08
1998	36.45	11.45	18.04	674.02	121.34	44.29
1999	49.77	20.16	20.54	488.13	165.68	77.99
2001	41.25	21.20	18.94	274.54	137.32	82.01
2002	42.66	27.00	19.21	514.76	142.01	104.45

Regression Equation/ Equation de régression

$$Y (\text{Cocoon harvested / dfl}) = -8.7136 + 0.4374 X (\text{No. of Larvae / dfl}), \\ (1.1924) \quad (0.3333)$$

$$Y (\text{Cocons recueillis / ponte saine}) = -8.7136 + 0.4374 X (\text{Nbre de larves / ponte saine}) \\ (1.1924) \quad (0.3333)$$

$$F\text{-test} = 1.7229^{\text{NS}}, \quad T\text{-test (coeff.)} = 1.313^{\text{NS}}, \quad R^2 = 0.1772$$

Forecasting of cocoon yield / dfl / Préviction de rendement en cocons / ponte saine

Based on observed values / D'après les valeurs observées						
No. of larvae / dfl <i>Nbre de larves / ponte saine</i>	50	60	70	80	90	100
Est. Yield / dfl <i>Rendement estimé / ponte saine</i>	21	22	24	26	28	30

Source: Original data collected from Technical Report of REC Oak tasar, Palampur, Himachal Pradesh / Données originales recueillies à partir du Rapport Technique du REC du tasar du chêne, de Palampur, dans l'Himachal Pradesh.

The wide variation in yield is going to affect farmer's earning manifold and there seems to be the effort of place and management in creating the variation. R. C. Kimothi, 2004 has observed an average yield variation of 13 to 50 cocoons per farmer per dfl when they were supplied with 500 g of eggs and rearing was done in Spring crop on *Q. semicarpifolia* as main food plant & supported by *Q. floribunda*. Lower earning performance is having detrimental effect on sustenance of Oak tasar and this is the issue for this present study. About three fold variation in the farmer's yield points that standards of rearing management has a lot of variation and there is a wide scope of standardization of processes which needs to be looked upon by the extension machineries.

It was also observed that number of worms / dfl ranged between 17 chawki worms / dfl to 51 chawki worms / dfl. This again speaks of improvement at the level of chawki rearing either through introduction of suitable breed, improvement in chawki rearing techniques, provision of quality leaf and maintenance of ideal temperature, humidity and proper handling of worms. If maximum production per dfl is computed against their chawki larvae supplied, it is obvious that yield ranged between 20 to 24 cocoons / dfl when corresponded average number of chawki larvae per dfl ranged between 60 to 70. Hence in order to standardize the no. of chawki larvae per dfl for supply to get on a yield of 20 to 24 cocoons per dfl supply of chawki larvae, regression analysis was carried out between number of cocoon per dfl vs. number of chawki larvae per dfl for the period 1991 to 2002.

The coefficient of determination R^2 is 0.1772 which is quite low and does not show linear trend. The estimated regression equation is $Y (\text{Cocoon harvested / dfl}) = -8.7136 + 0.4374 X (\text{No. of Larvae / dfl})$ based on ordinary least square linear model. Predicated value of cocoon harvested / dfl ranged between 22 to 30 cocoons at an interval of 2 units was estimated against corresponding supply of no. of chawki larvae ranged between 60 to 100 larvae at an interval of 10 units.

This standardization is also the optimum bench mark for assessing the quality of dfls in terms of survival of chawki larvae per dfl as lower loss in young stage is an indicator of healthy and quality dfls. From the above consideration it is inferred that for the present in order to get optimum yield per dfl, 60 chawki larvae per dfl and above should only be considered for supply of chawki worms per dfl to ensure consistently good performance. After ensuring the minimum yield as predicted above further improvement is required. For this regular check on quality feed, evaluation of breeds, breed improvement, technology improvement and on the spot dissemination of technology to the adopted farmers are necessary ingredients. This study will also help to pre-assess the cocoon yield and finally the future planning if executed properly.

There is a need to improve the chawki concept in view of stagnating larvae / dfl and cocoons per dfls. If only chawki worm supply can be taken up keeping hygiene, fecundity, proper feeding, suitable meteorological condition, protection from pests and predators and overall maintenance of uniform supervision the yield may increase manifold. If this is done each farmer should be supplied not in terms of dfls having large fluctuations of no. of larvae but a fixed higher no. of larvae be supplied to each farmer with standardized technique. Under these circumstances a higher & economically gainful yield is possible and that will lay the foundation stone for the Indian oak tasar for future. The higher no. of chawki worm supply coupled with indoor rearing on tin containers on indoor flour feeding under polythene cover has shown 76.6% to 70 % ERR. (R. K. Pandey, 1995). Till oak tasar gets its root among the rearers, they are to be supported with higher no. of chawki larvae with technical assistance from department & NGOs with the latest and best technologies. Needless to say about the other ingredients of oak tasar culture like quality food plant, agronomical practices, high yielding breed, suitable preservation schedule and large scale plantation along with productive rearing.

The ten years data show the ratio of chawki worm: cocoon formed as 37:27 that comes to about 73% of survival and this is the key of success for Indian oak tasar. If the Govt. takes the responsibility of supplying chawki worm with increased no. per dfl the scenario will change in favour of oak tasar which so far has not been done. The increase in no. of chawki worms per dfl is possible by large scale multiplication of high yielding varieties either developed at our RTRS like Imphal & Bhimtal or

imported from China or Other countries. Races imported from China were having higher fecundity {Blue yellow-I (253), Blue 6 (200)} and PRP lines developed indigenously were having fecundity of 155 in PRP₅ & 139 in PRP₄. Recently RTRS Bhimtal, Uttarakhand, has succeeded in multiplying their stock with as high fecundity as 250-300. If this can be further multiplied the higher supply of chawki worms is possible to greater no. of farmers which will enhance the production many fold at the rate of 80% of hatching the larvae supplied / dfl would come to 200 to 240 resulting in more than 60 cocoons per dfl even, if other improvements are not made.

REFERENCES

- BOX. GEORGE L.P., WILLIAM G. HUNTER AND J. STUART HUNTER (1978) Statistics for experimenters; An introduction to design, data analysis and Model Building, 2nd edition New York, John Wiley and sons.
- DAS P.K., VIJAVRANGGHVAN K AND JOLLY M.S (1983) Preliminary observation on the effect of feeding with washed & dusty mulberry leaves on the performances of four races of silkworm *Bombyx mori* L, National Seminar on Silk Research & Development, March 10-13, Ore (Abs) 114.
- DHAR S. L (1995) Oak tasar culture in Jammu and Kashmir. Ind. Silk, 41(10): 35-40
- JAYARAMAIAH M AND SANNABBA B (2000) Correlation coefficient between foliar constituents of castor genotypes & economic parameters of eri silkworm, *Samia Cynthia ricini* (*Lepidoptera: setuniidae*) Proceeding 3rd International conference on wild silkworm (Bhubaneshwar) : pp. 162-164.
- KIMPTHI R.C. (2004) Oak tasar in Uttaranchal: towards improving productivity norms. Ind. Silk, 42(12): 20-23
- PILLAI S., VENUGOPAL & JOLLY M.S (1985) An evaluation of quality of mulberry varieties raised under hill condition & crop result of *Bombyx mori* L. Ind. Jr. of Ser. 24 (20): 48-52.
- PANDEY R. K (1995) Indoor Oak tasar silkworm rearing in North-East. Ind. Silk 33 (10): 29-32
- SRINIVAS C., NOAMANI M. K. R. AND DAS P. K (1992) Oak tasar food plant: Improvement prospects and constraints. Ind. Silk, 30(10): 41-42
- SHARMA K. K., JADAV R. S., KIMOTHI R. C., DHASMANA M. M., AND SRIVASTAVA P. K (2005) Oak tasar culture and Environmental protection in Uttaranchal. Ind. Silk 43(11): 11-13
- RAJA RAM, KUMAR S AND ROY G.C., SINHA B.R.R.P (2000) Effect of different morphotypes of *Quercus semicarpifolia* on the rearing of *Antheraea proylei* J. Proceeding 3rd International conference on wild silk moth, Bhubaneshwar, pp 97-98.

POPULARISATION DE LA FOURNITURE DE JEUNES VERS A SOIE TASAR DU CHENE - UNE NECESSITE

B. M. K. SINGH, R. N. DUTTA, SURESH RAI*, S. K. SINHA & N. B. VIJAY

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

Le Centre de Vulgarisation de la Recherche de Palampur, dans l'Himachal Pradesh sert de centre névralgique de fourniture de graines pour la soie tasar du chêne dans la région du nord ouest de l'Inde. Puisque ce n'est pas une zone traditionnelle de production du tasar du chêne, il y a un manque de variétés prometteuses du tasar du chêne et la mise au point de variétés à rendement élevé est une priorité, associée à des pratiques d'élevage assorties. Des innovations technologiques continues sont nécessaires pour l'adaptation à des altitudes, à des plantes hôtes, à des lignées améliorées et à des saisons différentes. En l'absence de celles-ci, le rendement demeure imprévisible. Toutes ces composantes sont en cours d'amélioration et de stabilisation. L'imprévisibilité diminue beaucoup l'intérêt des sériciculteurs. On a donc jugé nécessaire d'évaluer le rôle de la fourniture en jeunes vers et son impact sur le rendement et sur les gains économiques, jusqu'à ce que de meilleures technologies adaptées soient mises au point. On a analysé statistiquement les données pendant dix ans entre 1991 et 2002, en excluant 1994 et 2000, sur la fourniture de jeunes vers et sur le rendement en cocons chez les fermiers du tasar du chêne fournis avec de jeunes larves. On procède à l'analyse de régression en utilisant les données originales, de manière à standardiser le nombre de larves par ponte saine, à prévoir le rendement et les revenus des fermiers pour les encourager et également pour suggérer d'autres facteurs contributeurs dans l'amélioration de la production. On observe que pour récolter un minimum de 20 cocons par ponte saine au niveau des fermiers, il faut maintenir une fourniture de 60 jeunes vers à soie par ponte saine et pour produire 30 cocons ou plus par ponte saine, il faut 100 jeunes larves par ponte saine, que l'on peut augmenter proportionnellement, avec le même taux de survie. Cette étude a été réalisée dans le seul but de planifier le travail de développement du tasar sur une base économiquement viable. L'amélioration de l'alimentation, des lignées, des graines et des pratiques d'élevage des jeunes vers et des technologies d'élevage des derniers âges sera déterminante.

INTRODUCTION

Antheraea proylei J., une lignée synthétique du tasar du chêne a été introduite dans l'Himachal Pradesh dans le nord-ouest de l'Inde 30 ans avant son exploitation systématique. *Quercus incana* et *Q. semicarpifolia* sont les deux plantes hôtes primaires qui représentent environ 98 % de la flore du chêne de l'Etat. *Q. semicarpifolia* a le privilège de produire des feuilles vertes et plus succulentes, qui ont un taux de maturation plus lent par comparaison aux autres espèces du chêne et on la préfère donc pour la production commerciale à grande échelle, ainsi que pour les cocons de la récolte de grainage. On a besoin de maximiser l'utilisation de *Q. semicarpifolia* pour une production et une productivité supérieures en cocons par l'adoption d'un élevage commercial avec des jeunes vers, car l'élevage du ver à soie tasar est nouveau pour les fermiers. On a pensé que cela pourrait directement aider les fermiers pauvres et marginaux qui dépendent jusqu'à présent de salaires quotidiens, car cela leur apportera leur propre emploi. Pendant les observations de 1991 à 2002, on a constaté que les fermiers qui adoptent l'élevage du tasar gagnent 500 à 4000 Rs en 30 jours pendant la saison du

* Email : sureshrai_1960@rediffmail.com

printemps. Le concept de l'élevage des jeunes vers dans le tassar du chêne sert de catalyseur pour l'adoption de l'élevage du tassar du chêne, car les gains arrivent dans une période de respectivement 28 à 38 jours à des altitudes basses et élevées et les fermiers gagnent 12 jours dans l'élevage des jeunes vers ainsi que pour les autres dispositions. Cependant, malgré la fourniture de jeunes larves, le rendement moyen / ponte saine est compris entre 10 à 27 cocons par ponte saine et une analyse est nécessaire pour comprendre pourquoi il y a des variations si importantes et pour mettre en œuvre des mesures pour atténuer l'écart, de manière à ce que la productivité augmente et que les prévisions soient fiables. Pendant la période d'observation, la performance n'est pas constante, à la fois en termes du nombre de larves obtenues par ponte saine et en termes de récolte de cocons par ponte saine. Le fermier est donc perdant car il doit payer un coût fixe de pontes saines, bien que le nombre de larves / ponte saine soit inférieur et donne un mauvais rendement. Un nombre fixe plus élevé de larves par ponte saine augmente forcément les recettes et c'est à ce stade que les unités gouvernementales d'Etat, les unités du *Central Silk Board* et les organisations non gouvernementales doivent améliorer l'élevage des jeunes âges, par l'amélioration des technologies, des pratiques, par une meilleure coordination, une plus grande implication et en fixant un nombre de jeunes larves par ponte saine à un niveau plus élevé pour la distribution, par l'utilisation de feuilles adaptées et par la fourniture de races d'origine indigène et exotique adaptées à la zone.

Das et coll., (1983) ont observé une différence de performance d'élevage entre les différentes races de *Bombyx mori*, tandis que Jayaramiah et coll., (2000) ont constaté une différence sur la base des constituants foliaires. Pillai et coll., (1985) ont évalué la qualité des feuilles de mûrier dans différentes conditions, qui entraînent des différences de la performance de récolte. De même, Raja Ram et coll., (2000) ont étudié l'effet des morphotypes de *Quercus semicarpifolia* sur l'élevage d'*Antheraea proylei* J. Ils indiquent une variation de rendement par ponte saine due à différentes raisons biotiques, mais aucune étude n'a été réalisée pour montrer le rôle de la fourniture de jeunes larves en nombre dans la détermination du rendement, si toutes les autres variables sont considérées uniformes. Cette étude a été réalisée dans ce contexte. Les observations sont supposées être utilisées pour fixer la norme concernant le nombre de vers / ponte saine et pour accorder plus d'attention à l'utilisation de variétés à la fertilité plus élevée, à l'amélioration des pratiques d'élevage des jeunes larves ainsi qu'au transport des larves, pour que l'élevage soit rentable pour les éleveurs.

MATERIELS ET METHODES

On a calculé et analysé les données sur dix ans entre 1991 et 2002, par rapport au rendement en cocons, à la fourniture de jeunes larves aux fermiers par le Centre de Vulgarisation de la Recherche de Palampur, qui sert de centre névralgique pour la fourniture de graines de tassar du chêne dans la région du nord-ouest de l'Inde, pour la standardisation du nombre de jeunes larves par ponte saine fournies aux fermiers, de manière à optimiser le rendement par ponte saine au niveau des fermiers et pour comparer les performances. On calcule les données liées au nombre moyen de larves par ponte saine et au rendement par ponte saine, d'après un simple calcul de pourcentage et de moyenne. On soumet les données calculées à l'analyse de régression pour déduire la corrélation entre la fourniture de jeunes vers à soie / ponte saine et le rendement en cocons / ponte saine. D'après l'analyse de régression, on obtient la prévision de rendement.

RESULTATS ET DISCUSSION

Il y a beaucoup de variation des revenus par fermier au cours des années, ce qui correspond à une différence de rendement par ponte saine. Le rendement moyen par fermier à la REC de Palampur est compris entre 10 et 27 cocons pendant les dix années d'étude, tandis que la fourniture par ponte saine est comprise entre 16 à 55 larves (la fourniture en jeunes vers est présentée dans le Tableau I). Les

données indiquent qu'il y a une incohérence entre la fourniture de jeunes vers par ponte saine et le rendement en cocons par ponte saine, pendant les années d'étude. On en déduit que la production de jeunes vers pour l'élevage n'est pas standardisée, soit les lignées utilisées sont différentes, soit les différences sont plus importantes au sein d'une lignée, ce qui devrait être uniformisé et l'apport de nourriture n'est pas très adapté. Cependant, les récentes observations enregistrées sur la performance d'élevage lors d'un essai expérimental sur *Q. serrata* pendant une récolte d'automne à Bhimtal, dans l'Uttarakhand révèlent une cohérence de rendement, en enregistrant 26, 25 et 21 cocons / ponte saine en 2001-2003 ; K. K. Sharma et coll., (2004). Cela prouve la supériorité de *Q. serrata* et cela pourrait être l'une des directions à suivre pour l'élevage des jeunes vers à soie. C. Srinivas et coll., 1992 ont insisté sur la nécessité de deux récoltes par an et pour cela, ils ont estimé que *Q. serrata* était la meilleure plante hôte de nature caduque, qui a le plus d'activité de bourgeonnement entre mars et septembre, ce qui est adapté à l'élevage.

La large variation de rendement affecte les gains des fermiers de manière importante et la variation semble venir des efforts accordés à la gestion. R. C. Kimothi, 2004 a observé une variation moyenne de 13 à 50 cocons par fermier par ponte saine, quand on leur fournit 500 g d'œufs et que l'élevage est réalisé pendant la récolte de printemps sur *Q. semicarpifolia* comme plante hôte principale, soutenue par *Q. floribunda*. Une performance inférieure de revenus a un effet néfaste sur la pérennité du tasar du chêne et c'est le thème de cette étude. Une variation de 1 à 3 du rendement chez les fermiers montre que les règles de gestion de l'élevage présentent beaucoup de variations et qu'il existe un grand potentiel de standardisation des processus grâce à des équipements de support, que l'on doit étudier.

On a aussi observé que le nombre de vers / ponte saine est compris entre 17 jeunes vers / ponte saine à 51 jeunes vers / ponte saine. Cela indique que l'élevage des jeunes vers doit être amélioré par l'introduction de lignées adaptées, par l'amélioration des techniques d'élevage des jeunes âges, par l'apport de feuilles de qualité et par le maintien d'une température, d'une humidité idéales et par une manipulation correcte des vers. Si on calcule la production maximum par ponte saine par rapport à la fourniture de jeunes larves, il est évident que le rendement est compris entre 20 et 24 cocons / ponte saine, quand le nombre moyen correspondant de jeunes larves par ponte saine est compris entre 60 et 70. On procède à une analyse de régression entre le nombre de cocons par ponte saine et le nombre de jeunes larves par ponte saine pendant la période de 1991 à 2002 pour standardiser le nombre de jeunes larves fourni par ponte saine afin d'obtenir un rendement de 20 à 24 cocons, à partir d'une ponte saine de jeunes larves.

Le coefficient de détermination R^2 est de 0,1772, ce qui est assez bas et il ne présente pas de tendance linéaire. L'estimation de l'équation de régression est Y (cocons récoltés / ponte saine) = $-8,7136 + 0,4374 X$ (Nb de larves / ponte saine) d'après le modèle linéaire des moindres carrés ordinaires. On estime que la valeur supposée de cocons récoltés / ponte saine est comprise entre 22 et 30 cocons, à un intervalle de 2 unités, par rapport à un apport correspondant en nombre de jeunes larves compris entre 60 et 100 larves, à un intervalle de dix unités.

La standardisation est aussi le repère optimal pour évaluer la qualité des pontes saines, en termes de survie des jeunes larves par ponte saine, puisque des pertes inférieures pendant les premiers âges sont un indicateur de pontes saines de qualité. D'après les considérations ci-dessus, on en déduit qu'à l'heure actuelle pour obtenir un rendement optimum par ponte saine, il ne faut prendre en compte qu'une fourniture d'au moins 60 jeunes larves par ponte saine pour s'assurer d'une performance constante de qualité. Après s'être assuré d'un rendement prévisionnel minimum selon ce qui est décrit plus haut, il faut des améliorations supplémentaires. Pour cela, les conditions nécessaires sont la vérification régulière de la qualité de la nourriture, l'évaluation des lignées, l'amélioration des lignées, l'amélioration des technologies et le transfert des technologies sur place pour les fermiers impliqués. Cette étude permettra aussi de faire des prévisions de rendement en cocons et en fin de compte de procéder à la planification dans le futur, si cela est réalisé correctement.

Il est nécessaire d'améliorer le concept d'élevage des jeunes âges en raison de la stagnation du nombre de larves / ponte saine et du nombre de cocons / ponte saine. Si on procède à la fourniture de jeunes vers, en maintenant des conditions d'hygiène, la fécondité, une alimentation correcte, des conditions météorologiques adaptées, en assurant la protection par rapport aux insectes et aux prédateurs et en s'assurant généralement d'un contrôle uniforme, le rendement peut largement augmenter. Si cela est fait, il n'y aura pas de grandes fluctuations du nombre de larves fournies aux fermiers par ponte saine, avec la technique standardisée chaque fermier bénéficiera d'une fourniture d'un nombre fixe plus élevé de larves. Dans ces circonstances, un rendement supérieur et profitable sur le plan économique est possible et cela pose les bases de l'avenir du tassar du chêne indien. La fourniture d'un nombre plus important de jeunes vers associée à l'élevage à l'intérieur dans des récipients en fer avec une alimentation à base de farine sous un film de polyéthylène donne un ERR de 76,6 à 70 % (R. K. Pandey, 1995). Puisque le tassar du chêne s'enracine chez les éleveurs, il faut les soutenir avec un nombre plus élevé de jeunes larves, avec une assistance technique du département et des ONG et avec les dernières et les meilleures technologies. Inutile de mentionner les autres aspects de l'élevage du tassar, tels que la plante hôte, les pratiques agronomiques de qualité, une lignée à rendement élevé, un calendrier de conservation adapté et une plantation à grande échelle avec un élevage productif.

Les données sur dix années montrent un ratio jeunes vers : formation de cocons de 37 : 27, qui correspond à un taux de survie de 73 % et cela est la clé du succès pour le tassar du chêne indien. Si le Gouvernement prend la responsabilité de fournir un nombre plus élevé de jeunes vers par ponte saine, la situation changera en faveur du tassar du chêne, ce qui n'a pas été le cas jusqu'à présent. L'augmentation du nombre de jeunes vers par ponte saine est possible par la multiplication à grande échelle de variétés à rendement élevé, soit mises au point dans nos RTRS à Imphal et à Bhimtal, soit importées de Chine ou d'autres pays. Les races importées de Chine ont une fécondité supérieure (Blue yellow – 1 (253), Blue 6 (200) et les lignées PRP mises au point dans le pays ont une fécondité de 155 pour PRP5 et de 139 pour PRP4. Récemment, la RTRS de Bhimtal dans l'Uttarakhand a réussi à multiplier leur souche, avec une fécondité atteignant jusqu'à 250 - 300. Si elle peut être encore multipliée, il sera possible d'augmenter la fourniture de jeunes vers pour un plus grand nombre de fermiers, ce qui augmentera largement la production, avec un taux d'éclosion des larves fournies / ponte saine de 80 %, ce qui reviendrait à 200-240, soit plus de 60 cocons par ponte saine, même si d'autres améliorations ne sont pas entreprises.

IMPACT OF LIGHT TREATMENT ON PUPAL WEIGHT LOSS AND MOTH EMERGENCE IN *ANTHERAEA PROYLEI* J. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

REETA LUIKHAM*, T. JAMES KEISA, K. CHAOBA SINGH, BIREN RANA AND R. VARATHARAJAN¹

Regional Tasar Research Station, Central Silk Board, Mantripukhri, Imphal - 795002, Manipur, India.

¹Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal, Manipur - 795 003, India

*A study on pupal weight loss due to histogenesis, organogenesis and metamorphosis during 17h light treatment and its resultant effect on emergence of adult moth in *Antheraea proylei* has been worked out for a period from 2003-2007. For additional crops during summer and autumn seasons, the only means of terminating diapause is through 17h light treatment (13h daylight & 4h artificial light) and 7h scotophase for a period of 25-30 days is needed to get uniform and synchronized emergence of moth, which in turn facilitates in conducting large scale grainage. The moth emergence percentage in four batches of light treatment at an interval of 15 days showed 87 ± 0.44 , 73 ± 0.54 , 49 ± 0.35 and 36 ± 0.59 respectively resulting in significant difference among the four batches of light treatments and significant negative correlation ($r = -0.99$) between moth emergence and age of the pupae. While the increase in pupal age showed a significant positive correlation ($r = 0.91$) with the percentage of pupal weight loss. The percentage of weight loss in male pupa is significantly ($P < 0.05$) more than that of female pupa. However, there is no significant difference in coupling percentage and fecundity in all the four batches. The pupal age of less than 50 days responded quickly to light treatment for termination of diapause and the age of pupae of more than 51 days showed slow response to light treatment resulting in a very long grainage span in oak tasar culture.*

Keywords: *Antheraea proylei*, facultative diapause, light treatment, moth emergence.

INTRODUCTION

It is well known that the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* exhibits facultative univoltine or bivoltine cycle under favourable conditions (Singh & Singh, 1998) and prefers to live in temperate type of climate (Singh *et al.*, 1991). Environmental factors involved in induction, maintenance and termination of diapause include temperature, photoperiod, humidity and diet of which the photoperiod is considered as the major factor (Beck, 1968; Saunders, 1981; Yamashita, 1996). Moreover, several metabolic activities and biochemical parameters undergo changes during preservation period (diapause) in the course of development, metamorphosis and reproduction (Tripathi *et al.*, 1990). Termination of diapause in oak tasar is successful through photoperiodic treatment (Kumar, 1981; Jolly *et al.*, 1971). Much work has been done in various Lepidoptera pupae, the pupal weight loss in *Diacrisia obliqua* Wlk. by Goel and Kumar (1983) and in *Bombyx mori* Linn. by Kumar, *et al.*, (2000). However, information on *A. proylei* is meagre, therefore it was felt necessary to study the impact of light treatment on pupal weight loss and termination of diapause with moth emergence.

* Correspondence: reeta_luikham@rediffmail.com

MATERIALS AND METHODS

The age of pupae was recorded from 5th day of spinning onwards and categorized into four groups of 100 × 3 replications of male and female pupae in each batch having the same age of 36 ± 2.89 days were consigned to 17h light treatment (13h daylight & 4h artificial light of petromax) at different dates i. e. 1st June, 15th June, 30th June and 15th July at an interval of 15 days every year during 2003-2007. The light intensity of 4h artificial light was measured by LX-101 Luxmeter (Lutron) every day and the mean intensity was 150 ± 5 lux and the distance between the artificial light and the cocoons were 100 to 150 cm (Fig. 1). Both the sexes of pupae were numbered properly and weighed individually on electronic weighing balance (Model MX-7301A) after every five days interval till emergence of the moth. The female pupae were given light treatment five days earlier than the male pupae, so as to get uniform and synchronized emergence of male and female moths. During the light treatment, the maximum temperature (26 ± 2°C), minimum temperature (24 ± 2°C), relative humidity (80 ± 5%) and there was a 17h light treatment and 7h scotophase. Data on pupal weight loss, initiation of moth emergence, daily moth emergence pattern, emergence percentage, coupling percentage, fecundity, cocoon dfl ratio and grainage span were recorded separately for each batch. The experiment was repeated for three consecutive years. Pooled data of three years were analysed by following standard statistical methods for a conclusive interpretation.

RESULTS AND DISCUSSION

Antheraea proylei exhibits facultative diapause and remains under diapause in pupal stage for a period of 8 to 9 months. Adult emergence occurs after 255 ± 9.99 days diapause (Reeta *et al.*, 2005). Light treatment was generally used for raising additional crops of *A. proylei* during summer and autumn seasons. Williams *et al.*, (1965) had reported that although the pupa of *A. pernyi* is enclosed in a very opaque cocoon, the geometry of this cocoon makes it an ideal "light-integrating sphere", which collects light within it as blue haze. He demonstrated that the effect of photoperiod was exclusively on the brain, presumably the neuro-endocrine system, and that the most effective wavelengths of light were between 398 and 510 mμ. About 1% of the incident light is collected within the cocoon, and the brain of *A. pernyi* is fully saturated by about 1 foot-candle (10.8Lux) of this blue light. The transparent "window" in the pupal integument which overlies the brain in this species is thought to act as a "safety device for pupae in shady situations" (Williams, 1969).

Table I. Effect of light treatment on diapausing pupa (mean ± SE).

Tableau I. Effet du traitement à la lumière sur les chrysalides en diapause (moyenne ± écart type).

Date of 17h light treatment	Age of Pupae (days)	Initiation of moth emergence (days)	Total moth Emergence (%)
<i>Date du traitement à la lumière de 17 h</i>	<i>Age des chrysalides (jours)</i>	<i>Début de l'émergence des papillons (jours)</i>	<i>Emergence totale des papillons (%)</i>
1 st June / 1 ^{er} juin	36 ± 2.89	22 ± 0.03	87 ± 0.44
15 th June / 15 juin	51 ± 2.89	22 ± 0.11	73 ± 0.54
30 th June / 30 juin	66 ± 2.89	23 ± 0.20	49 ± 0.35
15 th July / 15 juillet	81 ± 2.89	25 ± 0.06	36 ± 0.59



Fig. 1. Light treatment of *Antheraea proylei* seed cocoons.

Fig. 1. Traitement à la lumière des cocons de grainage d'*Antheraea proylei*.

The first batch of light treatment was started from 1st June when the age of the pupa was 36 ± 2.89 days. The 2nd, 3rd and 4th batches of light treatment were given at an interval of 15 days in between the batches. As such, the ages of pupae in subsequent batches were 51 ± 2.89 , 66 ± 2.89 and 81 ± 2.89 days. The percentage of moth emergence in different batches of light treatment showed significant difference among the batches (Table I). During 17h light treatment, the initiation of moth emergence shows significant difference among the batches. Moth emergence started after 22 days of light treatment in case of the first and second batch, in third batch after 23 days and in fourth batch after 25 days of light treatment indicating that as the age of pupae advances, it takes more time to respond to the light treatment for termination of diapause and delays moth emergence. Hence, a significant negative correlation ($r = -0.91$) was recorded between the age of pupae and moth emergence, indicating that the termination of pupal diapause depends upon the age of pupae. Similarly in *A. mylitta*, injection of ecdysterone into diapausing pupae resulted in age- dependent responses of termination of diapause (Pradeep *et al.*, 1997). It is also observed that the coupling percentage and fecundity shows no significant difference in all the treatments (Table II). Similar findings have also been reported by Benchamin *et al.*, 1990 in *Bombyx mori* that different duration of photoperiodic treatment failed to affect fecundity and fertility as most of the oocyte maturation and spermatogenesis are completed before the treatment, which starts on the 6th days of spinning. The cocoons per dfl ratio declined drastically from 3.34:1 to 8.60:1 in the first to fourth batch showing significant differences among the batches.

Table II. Grainage performance of oak tasar seed cocoon during light treatment.*Tableau II. Performance de grainage des cocons de grainage du tasar du chêne pendant le traitement à la lumière.*

Batch Wise	Emergence (%)			Coupling (%)	Fecundity (no.)	Cocoon Dfl Ratio	Grainage Span (days)	Initiation of moth emergence On (day)
	Male	Female	Total					
<i>En fonction du lot</i>	<i>Emergence (%)</i>			<i>Accouplement (%)</i>	<i>Fécondité (nbre)</i>	<i>Ratio cocons / ponte saine</i>	<i>Durée du grainage (jours)</i>	<i>Début de l'émergence des papillons (le jour)</i>
	<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	<i>Total</i>					
I	47.00	40.00	87.00	92.10	230	3.34	13.67	22
II	39.55	33.00	73.00	93.49	223	3.87	14.33	22
III	25.55	24.00	49.00	90.61	217	5.43	15.33	23
IV	18.53	16.83	35.58	81.38	221	8.60	28.67	25
CD at 5 %	12.64	7.84	16.98	NS	NS	2.77	8.48	1.60

Table III. Total weight loss of male and female pupae during light treatment.*Tableau III. Perte de poids totale des chrysalides mâles et femelles pendant le traitement à la lumière.*

Age of pupa (Days)	Total weight loss (%)		Calculated 't' value
	Male	Female	
<i>Age des nymphes (Jours)</i>	<i>Perte totale de poids (%)</i>		<i>Valeur "t" calculée</i>
	<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	
36 ± 2.89	7.86	6.05	2.34
51 ± 2.89	7.82	6.40	3.47
66 ± 2.89	10.62	9.79	2.00
81 ± 2.89	11.73	9.25	6.27
Mean / Moyenne			3.52

Significant at 5% level (Student's 't' test). / Significatif au seuil de 5 % (Test "t" de Student).

Table IV. Total pupal weight loss percentage of male and female during light treatment.

Tableau IV. Pourcentage de perte de poids total de la chrysalide mâle et femelle pendant le traitement à la lumière.

Age of pupa (Days)	Sex	Pupal weight (g)		Total pupal weight loss (%)
		Initial	Final	
Age de la chrysalide (Jours)	Sexe	Poids de la chrysalide (g)		Perte de poids totale de la chrysalide (%)
		Initial	Final	
36 ± 2.89	Male / Mâle	5.09 ± 0.19	4.69 ± 0.11	7.86 ± 0.20
	Female / Femelle	7.27 ± 0.20	6.83 ± 0.14	6.05 ± 0.12
51 ± 2.89	Male / Mâle	5.12 ± 0.21	4.72 ± 0.23	7.82 ± 0.21
	Female / Femelle	7.20 ± 0.23	6.74 ± 0.14	6.40 ± 0.14
66 ± 2.89	Male / Mâle	5.08 ± 0.16	4.54 ± 0.22	10.62 ± 0.24
	Female / Femelle	7.15 ± 0.31	6.45 ± 0.18	9.79 ± 0.23
81 ± 2.89	Male / Mâle	5.20 ± 0.22	4.59 ± 0.26	11.73 ± 0.22
	Female / Femelle	7.14 ± 0.34	6.40 ± 0.16	9.25 ± 0.20

The weight loss percentage in male pupa is significantly ($P < 0.05$) more than that of female pupa (Table III), which has hypothetically proved that the female pupa requires more energy for development of reproductive organ and oviposition. It has been observed that the pupal period is longer in female than male. Similarly, Goel and Kumar (1983) have observed a longer pupal period in *Diacrisia obliqua* female than male and in *Bombyx mori* Linn. by Kumar *et al.*, 2000. However, in *Plusia orichalcea* male, pupal duration is longer than that of female (Kumar & Goel, 1985). Similar observations have been reported by Singh and Goel (1985) in pupal duration of male and female pupae of *Lymantria marginata*.

The female pupa of *A. proylei* is heavier than the male pupa (Table IV). Similar trend was also observed in the pupae of *D. obliqua* (Goel & Kumar, 1983); *L. marginata* (Singh & Goel, 1985); *P. orichalcea* (Kumar & Goel, 1985) and *B. mori* (Kumar *et al.*, 2000). The five days interval of weight loss percentage in male and female pupae of *A. proylei* gradually increases and the total weight loss ranges from 7.82 - 11.73% in the case of male and 6.05 - 9.79% in female (Table V). The percentage of weight loss in male pupa is significantly ($P < 0.05$) more than that of female pupa which probably signifies the accumulation of energy by female for ovipositional activities. The pattern of weight loss gradually increases during the light treatment probably corroborated by the phenomena of histolysis and histogenesis and also changes the total amount of protein (Chen, 1966; Agrell and Lundquist, 1973). This finding is in conformity with the contention of other workers (Tripathi *et al.*, 1990) in *Antheraea mylitta* and (Goel & Kumar, 1983) in *D. obliqua*.

Table V. Pupal weight loss percentage during light treatment to oak tasar seed cocoon.

Tableau V. Pourcentage de perte de poids de la chrysalide pendant le traitement à la lumière du cocon de grainage du tasar.

Light treatment (date)	Age of pupa (days)	Sex & Pupal wt. (g)	Percentage pupal weight loss in different days at an interval of 5 days (M ± SE)												Total wt. loss (%)
			Perte de poids de la chrysalide en % pendant différents jours tous les 5 jours (M ± Ecart type)												
Traitement à la lumière (date)	Age de la chrysalide (jours)	Sexe et poids de la chrysalide (g)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	Perte de poids totale (%)
1 st June 1 ^{er} juin	36±2.89	M 5.09 ±0.19	0.34 ±0.06	0.80 ±0.11	1.07 ±0.15	1.29 ±0.25	1.62 ±0.16	2.24 ±0.46							7.86 ±0.20
		F 7.27 ±0.20	0.40 ±0.06	0.49 ±0.09	0.83 ±0.12	0.92 ±0.12	1.37 ±0.11	2.04 ±0.21							6.05 ±0.12
15 th June 15 juin	51±2.89	M 5.12 ±0.21	0.40 ±0.06	0.75 ±0.21	1.09 ±0.15	1.48 ±0.20	1.94 ±0.22	2.16 ±0.39							7.82 ±0.21
		F 7.20 ±0.23	0.30 ±0.03	0.54 ±0.07	0.83 ±0.20	1.15 ±0.15	1.69 ±0.15	1.89 ±0.26							6.40 ±0.14
30 th June 30 juin	66±2.89	M 5.08 ±0.16	0.37 ±0.14	0.62 ±0.20	0.93 ±0.25	1.07 ±0.20	1.34 ±0.25	1.93 ±0.27	2.05 ±0.23	2.31 ±0.31					10.62 ±0.24
		F 7.15 ±0.31	0.50 ±0.20	0.65 ±0.11	0.75 ±0.18	0.98 ±0.31	1.17 ±0.23	1.66 ±0.27	1.96 ±0.31	2.12 ±0.21					9.79 ±0.23
15 th July 15 juillet	81±2.89	M 5.20 ±0.22	0.54 ±0.05	0.46 ±0.07	0.55 ±0.04	0.56 ±0.20	0.41 ±0.01	0.58 ±0.12	0.64 ±0.18	0.99 ±0.26	1.44 ±0.36	1.66 ±0.41	1.89 ±0.41	2.02 ±0.47	11.73 ±0.22
		F 7.14 ±0.34	0.26 ±0.04	0.32 ±0.05	0.35 ±0.04	0.33 ±0.06	0.28 ±0.17	0.47 ±0.12	0.50 ±0.19	0.82 ±0.16	0.97 ±0.35	1.37 ±0.43	1.72 ±0.45	1.96 ±0.22	9.25 ±0.20

M - Male / Mâle . F - Female / Femelle.

Table VI. Correlation between age of the pupa versus moth emergence and pupal weight loss (%).

Tableau VI. Corrélation entre l'âge de la chrysalide et l'émergence des papillons et la perte de poids de la chrysalide (%).

Parameters	Correlation co-efficient (r)	
	Male pupa	Female pupa
	Coefficient de corrélation (r)	
Paramètres	Chrysalide mâle	Chrysalide femelle
Pupal age versus Moth emergence (%) <i>Age de la chrysalide par rapport à l'émergence des papillons (%)</i>	- 0.99	- 0.99
Pupal age versus weight loss (%) <i>Age de la chrysalide par rapport à la perte de poids (%)</i>	0.94	0.87

The pupal age during light treatment is found a significant positive correlation ($r = 0.91$) with the percentage of pupal weight loss and significant negative correlation ($r = - 0.99$) with the emergence of adult moth (Table VI). Manifold increase in weight loss percentage indicates the end of the pupal stage as the high rate of metabolic activities takes place. Thus, the pattern of pupal weight loss is an important and sensitive indicator to several physiological activities that take place during growth and development of an insect during maintenance of pupal diapause.

REFERENCES

- AGRELL I. & LUNDQUIST A.M. (1973) in *The Physiology of Insects* (2nd ed), M. Rockstein, Academic Press, London & New York, 1 : 159.
- BECK S. D. (1968) *Insect Photoperiodism*, Academy Press, New York.
- BENCHAMIN K. V., GAPUZ JESUS V. & JAYARAMARAJU P. (1990) Influence of photoperiod on emergence, fecundity and fertility in multivoltine breeds of Silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seri. 29 (1) : 110 - 118.
- CHEN P.S. (1966) in *Advances in Insect Physiology*, eds. J.W.L. Beament, J.E. Treherne & V.B. Wigglesworth, Academic Press, London & New York, 3 : 53.
- GOEL S.C. & Kumar A. (1983) Morphology and weight loss in the pupa of *Discrisia obliqua* Wlk. (Lepidoptera: Arctiidae). Ann Entomol. Soc. Am. 76, 437 - 440.
- JOLLY M.S., SINHA S. S. & RAZDAN J. L. (1971) Influence of temperature and photoperiod on termination of pupal diapause in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. J. Insect Physiol. 17 : 753 - 760.
- KUMAR P. A. (1981) Scientific breakthrough makes second oak tasar feasible. Indian silk, Oct. : 17 - 25.
- KUMAR V. & GOEL S.C. (1985) weight loss in the pupa of *Plusia orichalcea* Fabr. (Lepidoptera : Noctuidae) Uttar Pradesh J. Zool. 5, 86 - 88.

- KUMAR V., KARIAPPA B.K., CHATURVEDI H.K., SARKAR A. & DATTA R.K. (2000) Gravimetrics of pupal weight loss in the Domestic Silkworm, *Bombyx mori* Linn. (Lepidoptera: Bombycidae) Int. J. Indust. Entomol. (1) 1 : 25 - 28.
- PRADEEP A. R., SHARAN S. K., SINGH M. K., SINHA B. R. R. P. & SINHA S. S. (1997) Endocrine Mediation in Termination of Pupal Diapause in *Antheraea mylitta* (Lepidoptera: Saturniidae) Entomon. 22 (3&4) : 173 - 178.
- REETA LUIKHAM., IBOHAL SINGH. N., BIREN RANA & JAMES KEISA T. (2005) Pupal weight loss during seed cocoon preservation in oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* Jolly (Lepidoptera: Saturniidae). Advance in tropical Sericulture. Proc. Nat. Conf. on Tropical Sericulture for Global Competitiveness. pp 411 - 413.
- SINGH J. & GOEL S.C. (1985) Feature in sexing and loss in weight of the pupae of *Lymantria marginata* Wlk. Dtsch. Ent. N.F. 32, 355 - 357.
- SINGH K. C & SINGH N. I. (1998) Biology and ecology of temperate tasar silkmths, *Antheraea proylei* Jolly and *Antheraea pernyi* Guerin- Meneville (Saturniidae) – a review. Indian J. Seric. 37 (2) : 89 - 100.
- SINGH K. C., TIKOO B. L. & SINGH T. K. (1991) Rearing of oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, in relation to altitudes and climate. Sericologia, 31 (2) : 261 - 270.
- SAUNDER D. S. (1981) Insect Photoperiodism. The clock and the counter. Physiol. Entomol. 6 : 99 - 116.
- TRIPATHI A.K., SINHA D. P. & SINGH S.B. (1990) Gross Chemical composition of different stages of *Antheraea mylitta* (Saturniidae: Lepidoptera). Proc. Nah. Acad. Sci. India, 60 (B), 1, 25 - 30.
- YAMASHITA O. (1996) Diapause hormone of the silkworm, *Bombyx mori*: Structure, gene expression and function. J. Insect Physiol. 42 (7) : 669 - 679.
- WILLIAMS C.M., ADKISSON P.L. & WALCOT C. (1965) Physiology of insect diapause. XV. The transmission of photoperiod signals to the brain of oak silkworm, *Antheraea pernyi*. Biol. Bull., Woods Hole, 128:497-507.
- WILLIAMS C. (1969) Photoperiodism and the endocrine aspects of insect diapause. Symp. Soc. Exp. Biol., 23: 285-300.

IMPACT DU TRAITEMENT A LA LUMIERE SUR LA PERTE DE POIDS NYMPHAL ET L'EMERGENCE DES PAPILLONS CHEZ *ANTHERAEA PROYLEI* J. (LEPIDOPTERE : SATURNIIDE)

REETA LUIKHAM*, T. JAMES KEISA, K. CHAOBA SINGH, BIREN RANA & R. VARATHARAJAN¹

Regional Tasar Research Station, Central Silk Board, Mantripukhri, Imphal – 795 002, Manipur, Inde.

1. Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal, Manipur – 795 003, Inde.

Une étude a été réalisée sur la perte de poids de la chrysalide due à l'histogenèse, à l'organogenèse et à la métamorphose pendant un traitement à la lumière de 17 heures et on a évalué son effet sur l'émergence du papillon adulte d'*Antheraea proylei* pendant la période 2003-2007. Pour les récoltes supplémentaires pendant les saisons de l'été et de l'automne, le seul moyen de terminer la diapause est un traitement de 17 h de lumière (13 h de lumière diurne et 4 h de lumière artificielle) et une scotophase de 7h pendant une période de 25 à 30 jours est nécessaire pour obtenir une émergence uniforme et synchronisée des papillons, ce qui à son tour facilite l'organisation d'un grainage à grande échelle. Le pourcentage d'émergence des papillons de quatre lots traités à la lumière à un intervalle de 15 jours est de respectivement $87 \pm 0,44$; $73 \pm 0,54$; $49 \pm 0,35$ et de $36 \pm 0,59$, ce qui montre une différence significative entre les quatre lots traités à la lumière et une corrélation négative significative ($r = -0,99$) entre l'émergence du papillon et l'âge des chrysalides. Tandis que l'augmentation de l'âge de la chrysalide présente une corrélation positive significative ($r = 0,91$) avec le pourcentage de perte de poids nymphal. Le pourcentage de perte de poids de la chrysalide mâle est significativement plus important ($P < 0,05$) que celui de la chrysalide femelle. Cependant, il n'y a pas de différence significative du pourcentage d'accouplement et de la fécondité chez les quatre lots. L'âge nymphal de moins de 50 jours répond rapidement au traitement à la lumière pour terminer la diapause et les nymphes de plus de 51 jours présentent une réponse lente au traitement à la lumière, ce qui entraîne une durée de grainage très longue dans l'élevage du tasar du chêne.

INTRODUCTION

On sait que le ver à soie du tasar du chêne, *Antheraea proylei* présente un cycle bivoltin ou univoltin facultatifs dans des conditions favorables (Singh et Singh, 1998) et préfère vivre dans un climat de type tempéré (Singh et coll., 1991). Les facteurs environnementaux impliqués dans l'induction, le maintien et l'achèvement de la diapause comprennent la température, la photopériode, l'humidité et l'alimentation, parmi lesquels la photopériode est considérée comme le facteur principal (Beck, 1968 ; Saunders, 1981 ; Yamashita, 1996). De plus, plusieurs activités métaboliques et paramètres biochimiques subissent des changements pendant la période de conservation (diapause) au cours du développement, de la métamorphose et de la reproduction (Tripathi et coll., 1990). L'achèvement de la diapause chez le tasar du chêne réussit grâce à un traitement photopériodique (Kumar, 1981 ; Jolly et coll., 1971). De nombreux travaux ont été réalisés chez différentes chrysalides

* Auteur auquel adresser la correspondance : reeta_luikham@rediffmail.com

de Lépidoptères, comme la perte de poids nymphal chez *Diacrisia obliqua* Wlk. par Goel et Kumar (1983) et chez *Bombyx mori* Linn. par Kumar et coll., (2000). Cependant, les informations sur *A. proylei* sont maigres, on a donc jugé nécessaire d'étudier l'impact du traitement à la lumière sur la perte de poids nymphal et sur l'achèvement de la diapause avec l'émergence des papillons.

MATERIELS ET METHODES

On enregistre l'âge des chrysalides à partir du 5^{ème} jour du filage et on les répartit en quatre groupes de 100 × 3 répétitions (dans chaque lot) de chrysalides mâles et femelles du même âge de 36 ± 2,89 jours, que l'on soumet à un traitement de 17 h de lumière (13 h de lumière diurne et 4h de lumière artificielle petromax) à des dates différentes, c'est à dire le 1^{er} juin, le 15 juin, le 30 juin et le 15 juillet à un intervalle de 15 jours chaque année de 2003 à 2007. On mesure l'intensité lumineuse de 4 h de lumière artificielle avec un Luxmètre LX-101 (Lutron) chaque jour et l'intensité moyenne est de 150 ± 5 lux et la distance entre la lumière artificielle et les cocons est de 100 à 150 cm (Fig. 1). On numérote correctement les deux sexes des chrysalides et on les pèse individuellement sur une balance électronique (Modèle MX-7301 A), tous les cinq jours jusqu'à l'émergence des papillons. On procède au traitement à la lumière cinq jours avant chez les chrysalides femelles que chez les chrysalides mâles, de manière à avoir une émergence uniforme et synchronisée des papillons mâles et femelles. Pendant le traitement à la lumière, la température maximum est de 26 ± 2° C, la température minimum de 24 ± 2° C, l'humidité relative de 80 ± 5 % et le traitement à la lumière est de 17 h et la scotophase de 7 h. On enregistre, séparément pour chaque lot, les données sur la perte de poids de la chrysalide, sur le début de l'émergence des papillons, sur la structure d'émergence quotidienne des papillons, sur le pourcentage d'émergence, sur le pourcentage d'accouplement, sur la fécondité, sur le ratio cocons / ponte saine et sur la durée du grainage. On répète l'expérience pendant trois années consécutives. On analyse les données regroupées de trois années, en suivant les méthodes statistiques standards pour une interprétation concluante.

RESULTATS ET DISCUSSION

Antheraea proylei présente une diapause facultative et reste à l'état de diapause pendant le stade de chrysalide pour une période de 8 à 9 mois. L'émergence des adultes se produit au bout de 255 ± 9,99 jours de diapause (Reeta et coll., 2005). On utilise en général le traitement à la lumière pour obtenir des récoltes supplémentaires d'*A. proylei* pendant les saisons d'été et d'automne. Williams et coll., (1965) ont signalé que bien que la chrysalide d'*A. pernyi* soit enfermée dans un cocon très opaque, la géométrie du cocon en fait « une sphère intégrant la lumière » idéale, qui recueille la lumière à l'intérieur, sous la forme d'un halo bleu. Ils ont prouvé que la photopériode a un effet exclusivement sur le cerveau, vraisemblablement sur le système neuro-endocrinien et que les longueurs d'onde de lumière les plus efficaces sont entre 398 et 510 mμ. Environ 1 % de la lumière incidente est recueillie à l'intérieur du cocon et le cerveau d'*A. pernyi* est complètement saturé par 10,8 lux de cette lumière bleue. On pense que la « fenêtre » transparente dans le tégument nymphal qui recouvre le cerveau chez cette espèce agit comme « un dispositif de sécurité pour les chrysalides dans des situations ombragées » (Williams, 1969). On commence le premier lot de traitements à la lumière le 1^{er} juin, quand les chrysalides ont 36 ± 2,89 jours. On procède au traitement à la lumière des 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} lots tous les 15 jours en fonction des lots. Ainsi, l'âge des chrysalides des lots suivants est de 51 ± 2,89 ; 66 ± 2,89 et 81 ± 2,89 jours. Le pourcentage d'émergence de papillons chez les différents lots traités à la lumière présente une différence significative entre les lots (Tableau I). Pendant le traitement à la lumière de 17h, le début de l'émergence des papillons présente une différence significative entre les lots. L'émergence des papillons commence après 22 jours de traitement à la lumière dans le cas du premier et du deuxième lot, après 23 jours chez le troisième lot

et après 25 jours de traitement à la lumière chez le quatrième lot, ce qui indique qu'alors que l'âge de la chrysalide avance, elle prend plus de temps pour répondre au traitement à la lumière pour l'achèvement de la diapause, ce qui retarde l'émergence des papillons. On enregistre donc une corrélation négative significative ($r = -0,91$) entre l'âge des chrysalides et l'émergence des papillons, ce qui indique que l'achèvement de la diapause nymphale dépend de l'âge des chrysalides. De même, chez *A. mylitta* l'injection d'ecdystérone dans la chrysalide en diapause entraîne des réponses dépendantes de l'âge pour l'achèvement de la diapause (Pradeep et coll., 1997). On a aussi observé que le pourcentage d'accouplement et la fécondité ne présentent pas de différence significative dans tous les traitements (Tableau II). Benhamin et coll., 1990 ont aussi rapporté des observations similaires chez *Bombyx mori*, selon lesquelles les différentes durées de traitement photopériodique n'ont pas d'effet sur la fécondité et sur la fertilité, puisque la plus grande partie de la maturation de l'ovocyte et de la spermatogenèse s'achève avant le traitement, qui commence le 6^{ème} jour après le filage. Le ratio cocons par ponte saine passe de 3,34 : 1 à 8,60 : 1 du premier au quatrième lot, ce qui montre des différences significatives entre les lots.

Le pourcentage de perte de poids chez la chrysalide mâle est significativement plus important ($P < 0,05$) que chez la chrysalide femelle (Tableau III), ce qui laisse supposer que la chrysalide femelle a besoin de plus d'énergie pour le développement de l'organe reproductif et pour la ponte. On a observé que la durée nymphale est plus longue chez la femelle que chez le mâle. De même, Goel et Kumar (1983) ont observé une durée nymphale plus longue chez la femelle de *Diacrisia obliqua* que chez le mâle et Kumar et coll., chez *Bombyx mori* Linn. 2000. Cependant, chez le mâle *Plusia orichalcea*, la durée nymphale est plus longue que celle de la femelle (Kumar et Goel, 1985). Singh et Goel (1985) ont fait des observations similaires par rapport à la durée nymphale des chrysalides mâles et femelles de *Lymantria marginata*.

La chrysalide femelle d'*A. proylei* est plus lourde que la chrysalide mâle (Tableau IV). On a aussi observé une tendance similaire chez les chrysalides de *D. obliqua* (Goel et Kumar, 1983) ; de *L. marginata* (Singh et Goel, 1985) de *P. orichalcea* (Kumar et Goel, 1985) et de *B. mori* (Kumar et coll., 2000). L'intervalle de cinq jours par rapport au pourcentage de perte de poids chez les chrysalides mâles et femelles d'*A. proylei* augmente progressivement et la perte totale de poids est comprise entre 7,82 et 11,73 % dans le cas du mâle et entre 6,05 et 9,79 % chez la femelle (Tableau V). Le pourcentage de perte de poids chez la chrysalide mâle est significativement plus important ($P < 0,05$) que chez la chrysalide femelle, ce qui indique l'accumulation d'énergie par la femelle pour ses activités de ponte. La structure de perte de poids augmente progressivement pendant le traitement à la lumière, probablement corroborée par le phénomène d'histolyse et d'histogénèse et change aussi la quantité totale de protéines (Chen, 1966 ; Agrell et Landquist, 1973). Cette observation est conforme aux affirmations d'autres chercheurs (Tripathi et coll., 1990) chez *Antheraea mylitta* et chez *D. obliqua* (Goel et Kumar, 1983).

On constate que l'âge nymphal pendant le traitement à la lumière est positivement corrélé ($r = 0,91$) avec le pourcentage de perte de poids nymphal et on observe une corrélation négative significative ($r = -0,99$) avec l'émergence du papillon adulte (Tableau VI). Une augmentation importante du pourcentage de perte de poids indique la fin du stade nymphal, alors que le taux élevé d'activités métaboliques prend place. La structure de perte de poids de la chrysalide est donc un indicateur important et sensible de plusieurs activités physiologiques, qui prennent place pendant la croissance et le développement d'un insecte pendant le maintien de la diapause nymphale.

EVALUATION OF SOME BOTANICALS, ANTIBIOTICS, CARBON SOURCE AND CARRIER AGAINST THE BACTERIAL DISEASE OF MUGA SILKWORM, *ANTHRAEA ASSAMENSIS*

PRANAB DUTTA*, K. NEOG, R. DAS, K. DAS, P.K. HANDIQUE & R. CHAKRAVORTY

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

Muga silkworm, *Antheraea assamensis* Helfer (Lepidoptera: Saturniidae), the golden silk producer and pride of India is semi domesticated in nature. Among the many constraints that influence the success of cocoon production, the menace of bacterial disease is the prime one, which causes substantial yield loss (14-40%). Larva stops feeding, vomits gut juices & excretes semi solid faeces, becomes soft & translucent, dies with hanging upside downward, body colour turns to deep brown to black colour are the typical symptom for the disease. Ten different botanicals viz., Rhizome of Ginger (*Zingiber officinale* Rose), Turmeric (*Curcuma longa* L.), Onion (*Allium cepa* L.) bulbs, Garlic (*Allium sativum* L.) cloves, leaves of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), Mimosa (*Mimosa rubicaulis* L.), Mikania (*Mikania micrantha* HBK), Digloti (*Litsea salicifolia* Roxb.), Bougainvillea (*Bougainvillea spectabilis*), Marigold (*Tagetes erecta* L.), Congress grass (*Parthenium hysterophorus*), Karanja/Pierse (*Pongamia pinnata* L.), Amla (*Embllica officinale* L.), were tested against the causal agent of the disease. Out of all the botanicals evaluated, Garlic was found best in inhibiting (83.0%) the growth of bacterial pathogen causing flacherie disease of muga silkworm followed by digloti (81.2%). Similarly, five different antibiotics (Tetracycline, Streptomycine sulphate, Oxytetracycline, Rifamycine and Chloramphenicol) at four different concentrations (100, 200, 500 and 1000ppm) were tested in *in vitro* and Streptomycine sulphate (1000ppm) was found as the best antibiotic in inhibiting the growth of the pathogen (52.37%). When combined effect of Streptomycine sulphate with botanicals of garlic and diglati were also tested at 100, 200, 500 and 1000 ppm against the bacteria, Streptomycine sulphate together with digloti (58.94%) showed highest inhibitory effect then the Streptomycine sulphate with garlic (54.99%). In field experiment efficacy of Streptomycine sulphate and digloti alone and in combination with sucrose (2%) and carrier (0.02%) were tested against the bacterial diseases of muga silkworm. The result revealed that combined application of all the four ingredients was best in reducing the disease incidence (13.75%) together with growth character of silkworm as indicated by increased cocoon weight, shell weight and shell ratio.

Keywords: *Antheraea assamensis*, antibiotics, bacterial disease, botanical, flacherie, muga silkworm.

* Present address: Program Co-ordinator (Sr. Scientist), KVK-West Tripura, Chebri-799207, Tripura, India (E-mail: pranabd1974@indiatimes.com)

INTRODUCTION

The glitteriest golden yellow silk producer muga silkworm, *Antheraea assamensis* (Helfer) is semidomesticated endemic sericigenous insect species reared outdoor and is found only in North East India more particularly in Brahmaputra valley of Assam. It is a multivoltine, polyphagous, semidomestic insect, reared mainly on Som (*Persea bombycina* Kost) and Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) in six different seasons viz., Season 1 (December-January), Season 2 (February-March), Season 3 (May-June), Season 4 (June-July), Season 5 (July-August), and Season 6 (October-November) of which the crops reared during Season 3 and 6 are the commercial crops and 2 and 5 are seed crops and 1 and 4 are pre seed crops. In Assam, at present nearly 30,000 families are engaged in muga culture with a total area of 6755 hectares muga food plantation (1559 ha in Govt. and 5196 ha in private sector). Being outdoor in nature muga silkworm are exposed to various natural vagaries and thus prone to numbers of diseases and pests leading to heavy crop loss (Choudhury, 1981, Samson, 1987 and Thangavelu *et al.*, 1988). Among these, bacterial disease called 'Flacherie' is most important, causing serious damage to the muga silkworm (Chakravorty *et al.*, 2007). The disease is found to occur throughout the year irrespective of the seasons of rearing in all the muga growing pockets. Maximum incidence of disease was recorded during Season 1, 2, 3 and 5. The disease causes 100% crop loss in peak season (Chakravorty & Dutta, 2008). The typical symptom for flacherie disease is that at the initial stage, larvae loose appetite, become lethargic, body with full of moisture, emit black colour fluid, vomiting, diarrhea and ultimately infected worm dies hanging head downward (Dutta *et al.*, 2007). The disease is infectious and primarily infects the alimentary tract of the worm, but high infection may affect blood cells, hypodermis and fat bodies too (Dutta *et al.*, 2008). Looking at the typical symptoms and damage caused by the pathogen, it was felt necessary to test the different non-conventional sources alone and in combination with antibiotics under *in vitro* for its control. A field test was also conducted to test the efficacy of the botanicals and antibiotic separately and in different combinations with sucrose and carrier against the disease to find out most effective combination for further integration with other methods of disease management in field condition.

MATERIALS AND METHODS

Source of inoculum:

The bacteria causing flacherie disease of muga silk worm was isolated from the freshly infected diseased sample collected from different experimental fields of Central Muga Eri Research and Training Institute (CMER&TI), Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat, Assam and farmers field of muga growing pockets of Assam. Isolated culture was purified by dilution plate technique (Vishunavat and Kolte, 2005) and maintained by periodic sub culturing in fresh nutrient medium throughout the period of investigation.

In vitro evaluation of botanicals:

Efficacy of botanicals was tested by poisoned food technique as described by Schmitz (1930). Rhizome of Ginger (*Zingiber officinale* Rose), Turmeric (*Curcuma longa* L.), Onion (*Allium cepa* L.) bulbs, Garlic (*Allium sativum* L.) cloves, leaves of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), Mimosa (*Mimosa rubicaulis* L.), Mikania (*Mikania micrantha* HBK), Digloti (*Litsea salicifolia* Roxb.), Bougainvillea (*Bougainvillea spectabilis*), Marigold (*Tagetes erecta* L.), Congress grass/carrot grass (*Parthenium hysterophorus* L.), Karanja/Pierse (*Pongamia pinnata* L.), Amla (*Emblica officinale* L.) were utilized by taking thoroughly washed 100 g of respective parts in 100 ml of sterile water for crude extract preparation. Then the extract was filtered through a clean muslin cloth and filtrate was centrifuged at 10,000 rpm for 20 minutes to make it cell free (Siddique, 2000) at room temperature. The supernatant of the Botanical was considered as standard solution of 100% concentration of fresh

weight basis (Sekhawat and Prasada, 1971). Ten ml of bacterial suspension prepared from 48 hrs old bacterial cultures was added in 90 ml of sterilized molten Potato Dextrose Agar (PDA) medium in each petriplate of 9 cm diameter. Sterilized paper disc of 5mm diameter were dipped in different phytoextract for 1 min. and placed at the centre of the PDA plates. The basal medium (PDA) with a paper disc dipped in sterile water was served as control. Each treatment was replicated 5 times and incubated at $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Observation on growth inhibition was recorded upto 96 hrs at an interval of 24 hrs.

***In vitro* evaluation of antibiotics:**

Poisoned food technique (Schmitz 1930) was employed for evaluation of the five different antibiotic with four different concentration were screened using PDA medium keeping three replications. The antibiotics tested were streptomycine, tetracycline, oxytetracycline, rifamycine and chloramphenicol at the concentration of 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 1000ppm. Bacteria inoculated plates were prepared as per the method described above. For evaluation of different antibiotics sterilized paper disc of 5mm diameter were dipped in different concentrations of antibiotics for 1 min. and placed at the centre of the PDA plates. The basal medium (PDA) with a paper disc dipped in sterile water was served as control. Each treatment was replicated 5 times and incubated at $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Observation on growth inhibition was recorded upto 96 hrs at an interval of 24 hrs.

***In vitro* evaluation of compatible combination of Botanical and antibiotics:**

Botanicals and antibiotics found best in above two experiments were further evaluated to study the combined effect against the bacteria causing flacherie disease of muga silkworm by poisoned food technique as described by Schmitz (1930). Two botanicals found effective in *in vitro* study were mixed at five different concentrations (100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm) with the most effective antibiotic at the ratio of 1:1 and the same was used for dipping sterilized paper disc (5mm dia.). Paper discs were then placed at the centre of petriplates containing PDA media amended with bacterial inoculum. The basal medium (PDA) with a paper disc dipped in sterile water served as control. Each treatment was replicated 5 times and incubated at $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Observation on growth inhibition was recorded upto 96 hrs at an interval of 24 hrs.

Field testing of botanicals and antibiotics:

An antibiotic and a botanical (found best in *in vitro* study) alone and their compatible effective combination with adhesive/carrier (Carboxy methyl cellulose @ 2.0% W/V) and 2% (W/V) sucrose solution were further tested under field condition. The different treatment combinations were as follows,

T₁: Botanical (1000 ppm) + Antibiotic (1000 ppm)

T₂: Botanical (1000 ppm) + Antibiotic (1000 ppm) + Sucrose (@ 2 % W/V)

T₃: Botanical (1000 ppm) + Antibiotic (1000 ppm) + Sucrose (@ 2 % W/V) + Carrier (@ 0.02 % W/V)

T₄: Control (Water spray)

The experiment was conducted at Field Laboratory, Titabar and Experimental Farm of Central Muga Eri Research and Training Institute (CMER&TI), Lahdoigarh, Jorhat, Assam during 2007 and 2008. Worms, leaves, soil were sprayed thoroughly four times as per the treatment combination at an interval of 7 days (starting from two days of brushing). Newly hatched worms were brushed under nylon net @ 50 worms/plants for each treatment and replicated thrice. Observations on mortality per cent were recorded daily and subjected to analysis of variance.

RESULTS AND DISCUSSION

***In vitro* evaluation of botanicals:**

Antibacterial activity of ten different phytoextracts was assayed and data on effect of Botanical on growth of bacteria causing flacherie disease of muga silkworm is presented in Table 1. The data revealed that significant reduction in growth of bacteria was observed in respect of all the plant extracts tested. Among the botanicals tested, clove extract of garlic caused significantly maximum inhibition of growth (83.0%) followed by leaf extracts of diglotti, (81.2 %), while leaf extract of congress grass and bougainvillea were least effective (13.56% and 14.55% inhibition, respectively).

Table 1. Effect of botanicals on growth inhibition of bacteria causing flacherie disease of muga silkworm.

Tableau 1. Effet des substances botaniques sur l'inhibition de la croissance des bactéries provoquant la maladie de la flacherie du ver à soie muga.

Treatments	Parts used	Per cent inhibition of bacterial growth
Traitements	Parties utilisées	Pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne
Ginger / <i>Gingembre (Zingiber officinale)</i>	Modified roots / <i>Racines modifiées</i>	20.0 (26.56)
Turmeric / <i>Curcuma (Curcuma longa)</i>	Modified roots / <i>Racines modifiées</i>	73.3 (59.04)
Onion / <i>Oignon (Allium cepa)</i>	Bulbs / <i>Bulbes</i>	53.4 (47.05)
Garlic / <i>Ail (Allium sativum)</i>	Cloves / <i>Gousses</i>	83.0 (66.10)
N neem / <i>Margousier (Azadirachta indica)</i>	Leaves / <i>Feuilles</i>	76.7 (61.10)
<i>Mimosa (Mimosa rubicaulis)</i>	Roots / <i>Racines</i>	52.4 (46.40)
Mikania (<i>Mikania micrantha</i>)	Leaves / <i>Feuilles</i>	35.1 (36.33)
Diglotti (<i>Litsea salicifolia</i>)	Leaves / <i>Feuilles</i>	81.2 (64.30)
Bougainvillea / <i>Bougainvillier (Bougainvillea spectabilis)</i>	Leaves / <i>Feuilles</i>	14.55 (22.42)
Marigold / <i>Souci (Tagetes erecta)</i>	Leaves / <i>Feuilles</i>	43.34 (41.17)
Congress grass / <i>Parthène multifide (Parthenium hysterophorus)</i>	Leaves / <i>Feuilles</i>	13.56 (7.79)
Karanja / <i>Pierse (Pongamia pinnata)</i>	Leaves / <i>Feuilles</i>	55.26 (48.02)
Amla (<i>Emblca officinale</i>)	Fruits	51.24 (45.71)
SEm ±		2.13
CD (P = 0.05)		4.54

Data are mean of five replication / *Les données sont la moyenne de cinq répétitions.*

Figures in the parentheses are arc sine transformed values./ *Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs arc sinus transformées.*

Table II. Growth inhibition of Bacteria causing flacherie disease of muga silk worm at different concentration of antibiotics.

Tableau II. Inhibition de la croissance des bactéries provoquant la maladie de la flacherie du ver à soie muga avec différentes concentrations d'antibiotiques.

Antibiotics	Per cent growth inhibition *				
<i>Antibiotiques</i>	<i>Pourcentage d'inhibition de la croissance *</i>				<i>Moyenne</i>
	100 ppm	200 ppm	500 ppm	1000 ppm	
Tetracycline	18.24 (25.28)	28.26 (32.11)	32.54 (34.78)	65.67 (54.13)	36.18 (38.16)
Streptomycine Sulphate <i>Sulfate de streptomycine</i>	32.45 (34.73)	42.46 (40.66)	56.67 (48.83)	77.88 (61.94)	52.37 (46.38)
Oxytetracycline	26.78 (31.64)	31.44 (34.11)	34.43 (35.93)	59.45 (50.45)	38.02 (38.07)
Rifamycine	16.25 (23.77)	26.45 (30.95)	39.41 (38.89)	52.34 (46.34)	33.61 (35.43)
Chloramphenicol	6.56 (14.84)	16.77 (24.17)	21.23 (27.43)	28.43 (32.22)	18.25 (25.29)
	Between antibiotics <i>Entre les antibiotiques</i>		Within antibiotics <i>Au sein des antibiotiques</i>		
S.Em ±	0.875		0.650		
CD ($P = 0.05$)	1.872		1.673		

*Mean of five replication / *Moyenne de cinq répétitions.*

Figures in the parentheses are arc sine transformed values. / *Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs arc sinus transformées.*

The leaf extract of neem, and modified root extract of turmeric causes an inhibition percent of 76.7% and 73.33% respectively without any significant difference among them. Leaf extract of karanja/pierse causes 55.26% inhibition while the bulb extract of onion, causes 53.4% of the bacterial growth in the present investigation. During the *in vitro* studies, extracts like ginger, bougainvillea, congress grass, mikania did not give significant result. It can be hypothesize that either these extracts do not posses any antibacterial property against the bacteria causing flacherie disease of muga silkworm or these extracts may break down rapidly and the surviving population of bacterial pathogen may flourished in the media. There is much research reported on the antibacterial effects of many plant extracts (Tucker Lucy, 2002). The inhibitory action of neem may be due to azadirachtin present in leaf extract which retard the growth and activation of the pathogen. The effectiveness of onion bulb extract may be due to presence of antibacterial compounds as cycloallin, and carbohydrate propenyl

sulphuric acid. Clove extract of garlic found effective in the present study in inhibiting the bacterial growth might be due to the presence of antibacterial component allicin and allyl mercaptan. The result of effect of garlic as observed in the present study was in conformity with result reported by Unni *et al.*, 2004. They have also reported that garlic was effective in controlling the disease in muga silkworm.

Table III. Efficacy of botanicals and antibiotics against the flacherie disease (artificially inoculated) (Location: Field Laboratory, Titabar, Jorhat).

Tableau III. Efficacité des substances botaniques et des antibiotiques contre la maladie de la flacherie (inoculée de manière artificielle) (Lieu : Laboratoire de terrain, Titabar, Jorhat).

Antibiotics	Per cent growth inhibition *				Mean
<i>Antibiotiques</i>	<i>Pourcentage d'inhibition de la croissance*</i>				<i>Moyenne</i>
	100 ppm	200 ppm	500 ppm	1000 ppm	
Streptomycine Sulphate + Digloti (<i>Litsea salicifolia</i>)	38.55 (38.38)	45.56 (42.45)	65.77 (54.19)	85.88 (67.93)	58.94 (50.14)
Sulfate de streptomycine + Digloti (<i>Litsea salicifolia</i>)					
Streptomycine Sulphate + Garlic (<i>Allium sativum</i>)	36.67 (37.27)	41.44 (40.07)	62.43 (52.19)	79.45 (63.04)	54.99 (47.86)
Sulfate de streptomycine + ail (<i>Allium sativum</i>)					
S.Em ±	0.88	0.64	0.79	1.30	1.05
CD (<i>P</i> = 0.05)	1.56	1.22	1.59	2.54	2.09

*Mean of five replication / *Moyenne de cinq répétitions.*

***In vitro* evaluation of antibiotics:**

All the five different antibiotics viz., Tetracycline, Streptomycine sulphate, Oxytetracycline and Rifamycine, Chloramphenicol were found causing inhibition of bacterial growth under *in vitro* study. Perusal of data in Table II makes it clear that streptomycine sulphate was effective in inhibiting the growth of bacteria causing flacherie disease of muga silkworm with a mean inhibition per cent of 52.37%. This was followed by Oxytetracycline, Tetracycline, Rifamycine and Chloramphenicol with 38.02, 36.18, 33.61 and 18.25 per cent mean inhibition respectively. Earlier Streptomycine has been reported to be effective against a number of bacterial pathogen like *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp., *Corynebacterium* spp., *Agrobacterium* spp. causing diseases in crop plants (Sweetman, 1958). Similarly Oxytetracycline, tetracycline was reported to delay the growth of *Staphylococcus aureus*, a bacterium often associated with food poisoning and also effective against a number of Gram +ve and gram -ve bacteria.

Table IV. Efficacy of botanicals and antibiotics against the flacherie disease (artificially inoculated) (Location: Field Laboratory, Titabar, Jorhat).

Tableau IV. Efficacité des substances botaniques et des antibiotiques contre la maladie de la flacherie (inoculée de manière artificielle) (Lieu : Laboratoire de Terrain, Titabar, Jorhat).

Treatments	Disease incidence * (%)	Reduction of disease over inoculated control (%)*	ERR (%)	Cocoon weight (g)**	Shell weight (g)**	Shell ratio (%)**
Traitements	Incidence de la maladie * (%)	Diminution de la maladie par rapport au témoin inoculé (%)		Poids du cocon (g) **	Poids de la coque (g) **	Richesse soyeuse (%) **
T1: Streptomycine Sulphate (1000ppm) + Digloti (<i>Litsea salicifolia</i>) (1000 ppm) <i>Sulfate de streptomycine (1000 ppm) + digloti (Litsea salicifolia) (1000 ppm)</i>	38.75 (38.49)	58.67 (49.99)	61.25 (51.50)	5.80	0.45	7.75
T2: Streptomycine Sulphate (1000ppm) + Digloti (<i>Litsea salicifolia</i>) (1000 ppm)+ Sucrose (@ 2 % W/V) <i>Sulfate de streptomycine (1000 ppm) + digloti (Litsea salicifolia) (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v)</i>	18.75 (25.66)	80.00 (63.43)	81.25 (64.34)	6.45	0.52	8.06
T3: Streptomycine Sulphate (1000ppm) + Digloti (<i>Litsea salicifolia</i>) (1000 ppm)+ Sucrose (@ 2 % W/V) + Carrier (@ 0.02 % W/V) <i>Sulfate de streptomycine (1000 ppm) + digloti (Litsea salicifolia) (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v + vecteur (à raison de 0,02 % p / v)</i>	13.75 (21.77)	85.53 (67.64)	86.25 (68.23)	6.49	0.54	8.32
T4: Uninoculated control (Water spray) <i>Témoin non inoculé (vaporisation d'eau)</i>	50.0 (45.00)	46.67 (43.08)	50.0 (45.00)	5.20	0.34	6.54
T5: Inoculated control (inoculated artificially with bacterial suspension) <i>Témoin inoculé (inoculé de manière artificielle avec une suspension bactérienne)</i>	93.75 (75.52)	-	6.25 (50.00)	4.89	0.22	4.49
SEm ±	1.87		1.15	0.09	0.06	0.11
CD (P = 0.05)	4.16		3.24	0.19	0.10	0.21

*Data are mean of 6 different seasons / Les données sont la moyenne de 6 saisons différentes.

Data are mean of 20 silkworm including both male and female in each season / ** Les données sont la moyenne de 20 vers à soie comprenant à la fois des mâles et des femelles pendant chaque saison. **ERR: Effective rate of rearing / Taux Effectif d'Elevage.

***In vitro* evaluation of combination effect of botanicals and antibiotics:**

Combine effect of botanicals and antibiotic on growth inhibition of causal agent of flacherie at different concentrations showed that at all the tested concentrations the growth was significantly inhibited (Table III). Inhibition per cent was lowest in 100ppm but this was found increased with increased concentration of botanical and antibiotic maximum being in 1000 ppm in all the treatment combination. Mean inhibition per cent was found higher (58.94%) when the bacteria was allowed to grow in presence of Streptomycine Sulphate + Digloti (*L. salicifolia*) this was followed by 54.99 per cent inhibition in case of Streptomycine Sulphate + Garlic (*A. sativum*). Combined efficacy of antibiotic and botanical was found better than alone, this might be due to the synergistic effect of one on other. Here antibiotic causes interference with the bacterial enzyme system leading to physiological disturbances and make them weak enough and ultimately they were destroyed by the action of antibiotic and antibacterial component of botanical. Therefore, more mean inhibition per cent was found in combined test than those tested alone for both botanical and chemical.

Field testing of botanical and antibiotics:

The data on effect of different treatment on bacterial disease of muga silkworm presented in Table IV revealed that all the treatment combination has significant effect on reduction of disease incidence, increase in effective rate of rearing (ERR%), cocoon weight (g), shell weight (g) and shell ratio (%). Out of all the treatments lowest disease incidence (13.75 %), highest ERR (86.25%), cocoon weight (6.49 g), shell weight (0.54 g) and shell ratio (8.32%) was recorded when treated with Streptomycine sulphate (1000 ppm) + Digloti (*L. salicifolia*) (1000 ppm) + Sucrose (@ 2 % W/V) + Carrier (@ 0.02 % W/V). This was followed by Streptomycine sulphate (1000 ppm) + Digloti (*L. salicifolia*) (1000 ppm) + Sucrose (@ 2 % W/V) with 18.75%, 81.25%, 6.45g, 0.52g and 8.06% of disease incidence, ERR%, cocoon weight, shell weight and shell ratio respectively. Highest disease incidence (93.75%), lowest ERR (6.25%), cocoon weight (4.89g), shell weight (0.22g) and shell ratio (4.49%) was recorded in the control treatment where no control treatment were applied only inoculation was done with the bacterial suspension. From this experiment it was found that when sucrose and carrier was used along with the botanical and antibiotic it significantly reduced the disease incidence along with increased ERR%, cocoon weight, shell weight and shell ratio. The increased characteristics might be due to acceleration of growth and development of silkworm through orientation of physiological activity and thereby increasing the silk content as observed in *Bombyx mori* (Sivaprakasam and Rabindra, 1996). Literature in this line on muga silkworm is absolutely scanty. Carbon as food supplement (available from sucrose and carrier) helps in achieving resistance power to the silkworm thereby disease incidence reduced in treatment when sucrose and carrier were used along with the botanical and antibiotic. The effect of best treatment in enhancing the economic characters in the present investigation are in confirmation with the findings of Rajashekhar Gowda (1991), who reported the extracts of *Psoralea coryleifolia* and *T. terrestris* enhance the economic character of *B. mori*. The growth promoting effect of botanical was also reported by Murugan *et al.*, (1998). The antibiotic used in the study act directly on the microorganism as killing agents or as inhibitors of growth and reproduction. They probably act against bacteria by interfering with their enzyme systems and thus producing physiological disturbances which first inhibit and then they destroy the bacteria. Spraying leaf extract of digloti together with antibiotic may inhibit the establishment and development of pathogen inside the gut environment as they were inhibitory to the pathogen and have therapeutic effect (Hussain *et al.*, 1988). They also reported that medicinal plants have been used for centuries as remedies for many bacterial disease in human. Moreover, *Litsea glutinosa* a plant species belonging to same family as digloti contains some potent phytoconstituents like carbohydrate, tannin, alkaloid which causes growth inhibition of bacteria pathogen like *Pseudomonas auriginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (Prusti *et al.*, 2008).

The results of present study showed an encouraging result of combined use of Botanical and antibiotic against the dreaded bacterial disease of muga silkworm. However, further studies may lead to development of a suitable bio-pesticidal formulation for sustainable sericulture with a technique which is socially, economically and ecologically viable in near future.

REFERENCES

- CHAKRAVORTY, R. AND DUTTA, PRANAB (2008). Problem of muga culture, *Antheraea assamensis* in Cooch Behar and integrated management approach (Base Paper). In: Proceedings of workshop on "Disease and pest management in Muga culture" Held at Cooch Behar, W.B. 29 Feb, 2008. Pp.1-14.
- CHAKRAVORTY, R., DAS, R., NEOG, K., DAS, K., SAHU, M (2007). A diagnostic manual for diseases and pest of Muga silkworms and their host plants. Published by CMER&TI, Central Silk Board, Lahdoigarh, Jorhat, Assam. pp 1-47.
- CHOWDHURY, S.N. (1981) Diseases, pests and parasites. In: Choudhury, S.N (Eds.). Muga silk Industry. Directorate of Sericulture and Weaving. Govt. of Assam, Guwhati, India. Pp. 74-81
- DUTTA PRANAB, DAS, K., DAS, R AND CHAKRAVORTY, R. (2007). Bacterial disease of Muga silk worm and its management approach. In: Proceedings of workshop on "Current technology on Muga host plants and silkworm" Held at Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Jorhat, 14 December, 2007. pp.54-59.
- DUTTA PRANAB, DAS, K., DAS, R AND CHAKRAVORTY, R. (2008). Diseases of muga silk worm, *Antheraea assamensis* Helfer and management practices. In: Proceedings of workshop on "Disease and pest management in Muga culture" Held at Cooch Behar, W.B. 29 Feb, 2008. Pp.36-52.
- HUSSAIN, A, VIMANI, O.P. POPLI, S.A, MISRA, L.N., GUPTA, M.M., SRIVASTAVA, G.N. ABRAHAM, Z AND SINGH, A.K. (1988) In: Dictionary of Indian Medicinal Plants. CIMP, Lucknow, India. Pp. 1-504.
- MURUGAN, K., JEYABALAN, D., SENTHIL KUMAR, N., SENTHIL KUMAR, NATHAN, S., SIVAPRAKASAM, N. (1998) Growth promoting effect of plant products on silkworm-A biotechnological approach. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 57 (11): 740-745
- PRUSTI, A., MISHRA, S. R., SAHOO, S AND MISHRA, S. K. (2008) Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. <http://www.medicinalplantsagainstbacteria.com>
- RAJASHEKHAR GOWDA (1991) Studies on methods to increase silk yield of *Bombyx mori* L. Ph. D Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 173-177. pp.
- SAMSON, M. V. (1987). Bacterial disease of silkworms and their control. Ph. D thesis, CSR & TI, Mysore, 1-137.
- SCHMITZ, H. (1930). Poisoned food technique. *Indust. Engin. Chem. Analyst. Ed. 2*: 361-363.
- SEKHAWAT, P.S. AND PRASADA, R. (1971). Antifungal properties of some plant extract. *Indian Phytopathology*. 24 : 800-802.
- SIDDIQUE, A. B. (2000) Competitor microflora of oyster mushroom and their management, M.Sc. Thesis, AAU, Jorhat.
- SIVAPRAKASAM, N. AND RABINDRA, R.J. (1996) Integrated disease management methods for grasserie in silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Indian Insect Science* 1: 21-26
- SWEETMAN, L. HARVEY (1958) The principles of biological control: Interaction of hosts and pests and utilization in regulation of animal and plant populations. W.M. C. Brown Co., Dubuque, IOWA (Pubs.), USA. Pp.560.
- THANGAVELU, K., CHAKRABORTY, A. K.; BHAGOWATI, A.K. AND ISA, MD. (1988). Handbook of muga culture, Central Silk Board, Bangalore.
- TUCKER, LUCY (2002) Botanical broilers: plants extracts to maintain poultry performance. *Feed International*
- UNNI, B. G., YADAV, ARCHANA, CHOUDHURY, ARUNDHATI, KUMARI, JYOTSNA, WANN, S. B. AND SARMA, Ranju (2004). *Chebulic myrobalan* for controlling bacterial

disease in muga silkworm, *Antheraea assamensis*. A preliminary report. *Natural Product Radiance*. 3 (5); 347-348

VISHUNAVAT, K AND KOLTE, S. J. (2005) Essentials of phytopathological techniques. Kalyani Publishers, N. Delhi, pp. 217.

EVALUATION DE SUBSTANCES BOTANIQUES, D'ANTIBIOTIQUES, DE SOURCE DE CARBONE ET DE TRANSPORTEUR CONTRE LA MALADIE BACTERIENNE DU VER A SOIE MUGA, *ANTHRAEA ASSAMENSIS*

PRANAB DUTTA*, K. NEOG, R. DAS, K. DAS, P. K. HANDIQUE &
R. CHAKAVOTRY

Central Muga Eri Research and Training Institute, Central Silk Board, Ministry of Textiles,
Lahdoigarharh, Jorhat – 785 700, Assam, Inde.

Le ver à soie muga, *Antheraea assamensis* Helfer (Lepidoptère: Saturniidae), le producteur de soie dorée, fiert de l'Inde, est de nature semi-domestiquée. Parmi les nombreuses contraintes qui influencent la réussite en matière de production de cocons, la principale menace est la maladie bactérienne, qui entraîne une perte de rendement considérable (14 à 40 %). Les symptômes typiques de la maladie sont les suivants : la larve arrête de se nourrir, vomit du liquide intestinal, excrète des excréments semi-solides, devient molle et translucide, meurt en pendant de haut en bas et la couleur du corps passe au marron foncé puis au noir. On a testé dix substances botaniques différentes, c'est-à-dire le rhizome du gingembre (*Zingiber officinale* Rose), les bulbes du curcuma (*Curcuma longa* L.) et d'oignon (*Allium cepa* L.), les gousses d'ail (*Allium sativum* L.), les feuilles de margousier (*Azadirachta indica* A. Juss), de mimosa (*Mimosa rubicaulis* L.), de liane américaine (*Mikania micrantha* HBK), de diglote (*Litsea salicifolia* Roxb.) de bougainvillier (*Bougainvillea spectabilis*), de souci (*Tagetes erecta* L.), de parthène multifide (*Parthenium hysterophorus*), de Karanja / Pierse (*Pongamia pinnata* L.), d'Amla (*Embilica officinale* L.) contre l'agent responsable de la maladie. Sur toutes les substances botaniques évaluées, l'ail s'avère le meilleur (83 %) pour inhiber la croissance du pathogène bactérien qui provoque la maladie de la flacherie du ver à soie muga, suivi par le diglote (81,2 %). De même, on a testé cinq antibiotiques différents (la tétracycline, le sulfate de streptomycine, l'oxytétracycline, la rifamycine et le chloramphénicol) à quatre concentrations différentes (100, 200, 500 et 1000 ppm) *in vitro* et le sulfate de streptomycine (1000 ppm) s'avère le meilleur antibiotique pour inhiber la croissance du pathogène (52,37 %). Quand on a aussi testé l'effet combiné du sulfate de streptomycine avec les substances botaniques, telles que l'ail et le diglote à 100, 200, 500 et 1000 ppm contre la bactérie, le sulfate de streptomycine associé au diglote a présenté l'effet inhibiteur le plus important (58,94 %), puis le sulfate de streptomycine associé à l'ail (54,99 %). Dans une expérience de terrain, on a testé l'efficacité du sulfate de streptomycine et du diglote seuls et en combinaison avec du saccharose (à 2 %) et un support (0,02 %) contre les maladies bactériennes du ver à soie muga. Les résultats révèlent que l'application combinée des quatre ingrédients est la meilleure pour diminuer l'incidence de la maladie (13,75 %) et pour les caractères de croissance du ver à soie, comme l'indique l'augmentation du poids du cocon, du poids de la coque et de la richesse soyeuse.

INTRODUCTION

Le ver à soie muga, le producteur de soie jaune dorée des plus chatoyantes, *Antheraea assamensis* (Helfer), est une espèce d'insecte séricigène endémique semi-domestiquée élevée à l'extérieur et que

* Adresse actuelle : Program Co-ordinator (Sr. Scientist), KVK-West Tripura, Chebri-799207, Tripura, Inde.
(E-mail : pranabd1974@indiatimes.com)

l'on ne trouve que dans le nord-est de l'Inde, plus particulièrement dans la vallée du Brahmaputre dans l'Assam. C'est un insecte polyvoltin, polyphage, semi-domestiqué élevé principalement sur Som (*Persea bombycina* Kost) et sur Soalu (*Litsaea polyantha* Juss) pendant six saisons différentes, c'est-à-dire la Saison 1 (décembre- janvier), la Saison 2 (février – mars), la saison 3 (mai – juin), la saison 4 (juin – juillet), la saison 5 (juillet – août) et la saison 6 (octobre – novembre), parmi lesquelles les élevages de la saison 3 et 6 sont les récoltes commerciales, les saisons 2 et 5 sont les récoltes de grainage et les saisons 1 et 4 sont les récoltes de pré-grainage. Dans l'Assam, à présent, près de 30 000 familles sont engagées dans l'élevage du muga, avec une surface totale de 6755 hectares de plantation hôte du muga (1559 ha dans le secteur public et 5196 ha dans le secteur privé). Etant élevé à l'extérieur, le ver à soie muga est exposé aux divers caprices de la nature et est donc sujet à un certain nombre de maladies et d'insectes, qui entraînent des pertes de récoltes importantes (Choudhury, 1981), Samson, 1987 et Thangavelu et coll., 1988). Parmi ceux-ci, la maladie bactérienne appelée la flacherie est la plus importante et entraîne des dégâts sérieux pour le ver à soie muga (Chakravorty et coll., 2007). On constate que la maladie se produit tout au long de l'année, quelles que soient les saisons d'élevage dans toutes les zones d'élevage du muga. On enregistre l'incidence maximum de maladie pendant les Saisons 1, 2, 3 et 5. La maladie provoque 100 % de perte de récoltes au pic de la saison (Chakravorty & Dutta, 2008). Les symptômes typiques de la maladie de la flacherie au stade initial, sont les suivants : les larves perdent leur appétit, deviennent léthargiques, leur corps se remplit d'eau, elles libèrent un liquide de couleur noire, vomissent, ont la diarrhée et finalement les vers infestés meurent avec la tête pendant vers le bas (Dutta et coll., 2007). La maladie est infectieuse et infeste principalement le tube digestif du ver, mais une infection importante peut aussi affecter les globules sanguins, l'hypoderme et les corps gras (Dutta et coll., 2008). En observant les symptômes et les dégâts typiques provoqués par le pathogène, il s'est avéré nécessaire de tester les différentes sources non-conventionnelles seules et en combinaison avec des antibiotiques, dans des conditions *in vitro* pour lutter contre elle. On a aussi réalisé un test sur le terrain pour tester l'efficacité des substances botaniques et des antibiotiques séparément et en différentes combinaisons, avec du saccharose et un support contre la maladie, afin de trouver la combinaison la plus efficace pour une intégration ultérieure avec d'autres méthodes de lutte contre les maladies dans des conditions de terrain.

MATERIELS ET METHODES

Source de l'inoculum :

On a isolé la bactérie qui provoque la maladie de la flacherie du ver à soie muga sur un échantillon fraîchement infesté par la maladie, recueilli dans différents terrains expérimentaux du *Central Muga Eri Research and Training Institute* (CMER&TI), du Central Silk Board, de Lahdoigarh, à Jorhat, dans l'Assam et dans les terrains des fermiers dans les zones d'élevage du muga dans l'Assam. On purifie la culture isolée par la technique de dilution en plaques (Vishunavat et Kolte, 2005) et on la maintient grâce à des sous-cultures périodiques dans un milieu nutritif frais pendant toute la durée de l'étude.

Evaluation des substances botaniques *in vitro* :

On a testé l'efficacité des substances botaniques avec la technique d'empoisonnement de la nourriture d'après la description de Schmitz (1930). On utilise le rhizome du gingembre (*Zingiber officinale* Rose), les bulbes de curcuma (*Curcuma longa* L.), d'oignon (*Allium cepa* L.), les gousses d'ail (*Allium sativum* L.), les feuilles de margousier (*Azadirachta indica* A. Juss), de mimosa (*Mimosa rubicaulis* L.), de liane américaine (*Mikania micrantha* HBK), de diglote (*Litsea salicifolia* Roxb), de bougainvillier (*Bougainvillea spectabilis*), de souci (*Tagetes erecta* L.), de parthène multifide (*Parthenium hysterophorus* L.), de Karanja / Pierse (*Pongamia pinnata* L.), d'Amla (*Emblica officinale* L.) en prenant 100 g des parties respectives, soigneusement lavées dans 100 ml d'eau stérile,

pour la préparation de l'extrait brut. Puis, on filtre l'extrait à travers un tissu de mousseline propre et on centrifuge le filtrat à 10 000 tpm pendant 20 min à température ambiante pour le rendre acellulaire (Siddique, 2000). On considère le surnageant de la substance botanique comme une solution standard avec une concentration à 100 %, sur la base du poids frais (Sekhawat et Prasada, 1971). On ajoute dix ml de suspension bactérienne préparée à partir de cultures bactériennes de 48 h, dans 90 ml de milieu Agar de Dextrose de Pomme de Terre (PDA) fondu stérilisé, dans chaque boîte de Petri de 9 cm de diamètre. On trempe un disque de papier stérilisé de 5 mm dans les différents phyto-extraits pendant 1 min. et on les place au centre des boîtes de PDA. Le milieu de base (PDA) avec un disque de papier trempé dans de l'eau stérile sert de témoin. On répète chaque traitement 5 fois et on l'incube à $25 \pm 1^\circ \text{C}$. On enregistre les observations sur l'inhibition de la croissance jusqu'à 96 heures, toutes les 24 h.

Evaluation des antibiotiques *in vitro* :

On a employé la technique d'empoisonnement de la nourriture (Schmitz, 1930) pour l'évaluation des cinq différents antibiotiques à quatre concentrations différentes, que l'on analyse en utilisant du milieu PDA, en maintenant trois répétitions. Les antibiotiques testés sont la streptomycine, la tétracycline, l'oxytétracycline, la rifamycine et le chloramphénicol à la concentration de 100 ppm, de 200 ppm, de 500 ppm et de 1000 ppm. On prépare les boîtes inoculées avec les bactéries d'après la méthode décrite ci-dessus. Pour l'évaluation des différents antibiotiques, on trempe des disques de papier stérilisé de 5 mm de diamètre dans différentes concentrations d'antibiotiques pendant 1 min. et on les place au centre des boîtes de PDA. Le milieu de base (PDA) avec un disque de papier trempé dans de l'eau stérile sert de témoin. On répète chaque traitement 5 fois et on l'incube à $25 \pm 1^\circ \text{C}$. On enregistre les observations sur l'inhibition de la croissance jusqu'à 96 heures, toutes les 24 heures.

Evaluation *in vitro* des combinaisons compatibles de substances botaniques et d'antibiotiques :

Les substances botaniques et les antibiotiques que l'on trouve les meilleurs dans les deux expériences ci-dessus sont à nouveau évalués pour étudier leur effet combiné contre la bactérie provoquant la maladie de la flacherie chez le ver à soie muga par la technique d'empoisonnement de la nourriture, d'après la description de Schmitz (1930). Deux substances botaniques trouvées efficaces dans l'étude *in vitro* sont mélangées à cinq concentrations différentes (100 ppm, 200 ppm, 500 ppm et 1000 ppm) avec l'antibiotique le plus efficace dans un ratio 1 : 1 et on les utilise pour tremper le disque de papier stérilisé (5 mm de diamètre). Puis, on place les disques en papier au centre des boîtes de Petri contenant le milieu PDA amendé avec l'inoculum bactérien. Le milieu de base (PDA) avec un disque en papier trempé dans de l'eau stérile sert de témoin. On répète chaque traitement 5 fois et on l'incube à $25 \pm 1^\circ \text{C}$. On enregistre les observations sur l'inhibition de la croissance jusqu'à 96 heures, avec un intervalle de 24 heures.

Test sur le terrain des substances botaniques et des antibiotiques :

On teste à nouveau un antibiotique et une substance botanique (que l'on a trouvés les meilleurs dans l'étude *in vitro*) seuls et en combinaison compatible efficace avec le fixateur / le support (le carboxyméthylcellulose à 2 % p / v) et une solution de saccharose à 2 % (p / v) dans des conditions de terrain. Les différentes combinaisons de traitement sont les suivantes :

T1 : Substance botanique (1000 ppm) + antibiotique (1000 ppm)

T2 : Substance botanique (1000 ppm) + antibiotique (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v)

T3 : Substance botanique (1000 ppm) + antibiotique (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v) + support (à raison de 0,02 % p / v)

T4 : Témoin (Vaporisation d'eau)

On réalise l'expérience au Laboratoire de Terrain, dans la Ferme Expérimentale du *Central Muga Eri Research and Training Institute* (CMER&TI), de Lahdoigarh, à Jorhat, dans l'Assam en 2007 et en 2008. On vaporise les vers, les feuilles et le sol soigneusement quatre fois en fonction de la combinaison, tous les 7 jours (en commençant deux jours après la levée). On lève les vers qui viennent d'éclore sous un filet en nylon à raison de 50 vers / plant pour chaque traitement et on le répète trois fois. On enregistre les observations sur le pourcentage de mortalité quotidiennement et on les soumet à l'analyse de variance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Evaluation des substances botaniques *in vitro* :

On évalue l'activité antibactérienne de dix phyto- extraits différents et les données sur l'effet des substances botaniques sur la croissance de la bactérie provoquant la maladie de la flacherie sont présentées dans le Tableau I. Les données montrent qu'on observe une diminution significative de la croissance des bactéries avec tous les extraits de plantes testés. Parmi les substances botaniques testées, l'extrait de gousse d'ail entraîne l'inhibition de la croissance significativement maximum (83 %), suivi par les extraits de feuille de digloli (81,2 %), tandis que l'extrait de feuilles du parthène multifide et du bougainvillier sont les moins efficaces (inhibition de respectivement 13,56 % et 14,55 %).

L'extrait de feuille de margousier et l'extrait modifié de racine de curcuma entraînent un pourcentage d'inhibition de respectivement 76,7 % et 73,3 %, sans aucune différence significative entre eux. Dans cette étude, l'extrait de feuille de karanja / de pierse entraîne une inhibition de 55,26 %, tandis que l'extrait de bulbe d'oignon entraîne 53,4 % de croissance bactérienne. Pendant les études *in vitro*, les extraits comme le gingembre, le bougainvillier, le parthène multifide, la liane américaine ne donnent pas de résultats significatifs. On peut supposer que soit ces extraits ne possèdent pas de propriété antibactérienne contre la bactérie provoquant la maladie de la flacherie du ver à soie muga, soit ces extraits se décomposent rapidement et la population survivante du pathogène bactérien pourrait s'épanouir sur le milieu. Il existe beaucoup de recherches sur les effets antibactériens de nombreux extraits de plantes (Tucker Lucy, 2002). L'action inhibitrice du margousier pourrait être due à l'azadirachtine présente dans l'extrait de feuille, qui retarde la croissance et l'activation du pathogène. L'efficacité de l'extrait du bulbe d'oignon pourrait être due à la présence de composés antibactériens tels que la cycloalline et l'acide sulfurique propényle hydrate de carbone. Dans cette étude, l'extrait de gousse d'ail s'avère efficace pour inhiber la croissance bactérienne, ce qui pourrait être dû à la présence de composants antibactériens l'alicine et l'allyle mercaptan. Le résultat de l'effet de l'ail observé dans cette étude est conforme au résultat rapporté par Unni et coll., 2004. Ils ont aussi rapporté que l'ail est efficace pour lutter contre la maladie chez le ver à soie muga.

Evaluation des antibiotiques *in vitro* :

Dans l'étude *in vitro*, on constate que les cinq différents antibiotiques, c'est-à-dire la tétracycline, le sulfate de streptomycine, l'oxytétracycline, la rifamycine et le chloramphénicol provoquent une inhibition de la croissance bactérienne. L'observation des données dans le Tableau II fait clairement apparaître que le sulfate de streptomycine est efficace pour inhiber la croissance des bactéries provoquant la maladie de la flacherie du ver à soie muga, avec une inhibition moyenne de 52,37 %. Il est suivi par l'oxytétracycline, la tétracycline, la rifamycine et le chloramphénicol, avec un pourcentage d'inhibition moyen de respectivement 38,02 ; 36,18 ; 33,61 et de 18,25 %. On a déjà rapporté que la streptomycine est efficace contre un certain nombre de pathogènes bactériens comme *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp., *Corynebacterium* spp., *Agrobacterium* spp. responsables de maladies chez les plantes cultivées (Sweetman, ; 1958). De même, on a signalé que l'oxytétracycline,

la tétracycline retardent la croissance de *Staphylococcus aureus*, une bactérie souvent associée avec l'empoisonnement de la nourriture et également efficace avec un certain nombre de bactéries gram + et gram -.

Evaluation *in vitro* de l'effet combiné des substances botaniques et des antibiotiques :

L'effet combiné des substances botaniques et des antibiotiques sur l'inhibition de la croissance de l'agent responsable de la flacherie à différentes concentrations montre qu'avec toutes les concentrations testées, la croissance est inhibée de manière significative (Tableau III). Le pourcentage d'inhibition est le plus faible avec 100 ppm, mais il augmente avec l'augmentation de la substance botanique et de l'antibiotique et il est maximal avec 1000 ppm dans toutes les combinaisons de traitement. Le pourcentage moyen d'inhibition s'avère plus élevé (58,94 %), quand on laisse la bactérie croître en présence de sulfate de streptomycine + digloli (*L. salicifolia*), suivi par une inhibition de 54,99 % avec le sulfate de streptomycine + ail (*A. sativum*). L'efficacité combinée de l'antibiotique et de la substance botanique s'avère meilleure que lorsqu'on les utilise seuls, ce qui pourrait être dû à l'effet synergétique de l'un sur l'autre. Dans ce cas, l'antibiotique interfère avec le système des enzymes bactériens, ce qui entraîne des dérangements physiologiques, qui les affaiblissent assez et ils sont finalement détruits par l'antibiotique et par le composant antibactérien de la substance botanique. On observe donc un pourcentage d'inhibition moyen plus important avec l'essai combiné, que lors de l'essai de la substance botanique et du produit chimique seuls.

Test sur le terrain de la substance botanique et de l'antibiotique :

Les données sur l'effet de différents traitements sur la maladie bactérienne du ver à soie muga présentées dans le Tableau IV montrent que toutes les combinaisons de traitements ont un effet significatif sur la diminution de l'incidence de la maladie, sur l'augmentation du taux effectif d'élevage (% ERR), du poids du cocon (g), du poids de la coque (g) et de la richesse soyeuse (%). Sur tous les traitements, on enregistre l'incidence la plus faible de la maladie (13,75 %) ; l'ERR (86,25 %), le poids du cocon (6,49 g), le poids de la coque (0,54 g) et la richesse soyeuse (8,32 %) les plus élevés lors du traitement avec du sulfate de streptomycine (1000 ppm) + digloli (*L. salicifolia*) (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v) + support (à raison de 0,02 % P / v). Il est suivi par le sulfate de streptomycine (1000 ppm) + digloli (*L. salicifolia*) (1000 ppm) + saccharose (à raison de 2 % p / v) avec respectivement 18,75 % ; 81,25 % ; 6,45 g ; 0,52 g et 8, 6 % respectivement d'incidence de maladie, de % ERR, de poids du cocon, de poids de la coque et de richesse soyeuse. On enregistre l'incidence de maladie la plus élevée (93,75 %), l'ERR (6,25 %), le poids du cocon (4,89 g), le poids de la coque (0,22 g) et la richesse soyeuse (4,49 %) les plus bas avec le traitement témoin, où on ne procède à aucun traitement et où on applique seulement l'inoculation de la suspension bactérienne. D'après cette expérience, on constate que quand on utilise le saccharose et le support avec la substance botanique et l'antibiotique, cela diminue l'incidence de la maladie de manière significative, tout en augmentant le % ERR, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse. L'augmentation des caractères pourrait être due à l'accélération de la croissance et du développement du ver à soie par l'orientation de l'activité physiologique, ce qui augmente donc la teneur en soie, comme on l'observe chez *Bombyx mori* (Sivaprakasam et Rabindra, 1996). Il existe très peu de littérature dans ce domaine chez le ver à soie muga. Le carbone comme complément alimentaire (disponible dans le saccharose et le support) permet de donner un pouvoir de résistance au ver à soie, ce qui diminue donc l'incidence de la maladie quand on utilise du saccharose et un support dans le traitement avec la substance botanique et l'antibiotique. Dans cette étude, l'effet du meilleur traitement dans l'amélioration des caractères économiques confirme les observations de Rajashekhar Gowda (1991), qui a signalé que les extraits de *Psoralea coryleifolia* et de *T. terrestris* améliorent les caractères économiques de *B. mori*. Murugan et coll., (1998) ont aussi rapporté l'effet de promotion de la croissance des substances botaniques. Les antibiotiques utilisés dans l'étude

agissent directement sur le micro-organisme, comme agents destructeurs ou comme inhibiteurs de la croissance et de la reproduction. Ils agissent probablement contre les bactéries en interférant avec leurs systèmes enzymatiques, ce qui produit des dérangements physiologiques qui, d'abord, inhibent, puis détruisent les bactéries. La vaporisation d'extrait de feuille de digloti avec les antibiotiques pourrait inhiber l'établissement et le développement du pathogène dans l'environnement de l'intestin, puisqu'ils inhibent le pathogène et ont un effet thérapeutique (Hussain et coll., 1988). Ils ont aussi rapporté que pendant des siècles on a utilisé les plantes médicinales comme remède contre de nombreuses maladies bactériennes chez l'être humain. Par ailleurs, *Litsea glutinosa*, une espèce de plante appartenant à la même famille que le digloti contient certains phytoconstituants puissants comme les hydrates de carbone, les tannins, les alcaloïdes qui provoquent l'inhibition de la croissance de pathogènes bactériens tels que *Pseudomonas auriginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (Prusti et coll., 2008).

Les résultats de cette étude sont encourageants quant à l'utilisation combinée des substances botaniques et des antibiotiques contre la maladie bactérienne redoutée du ver à soie muga. Cependant, des études ultérieures pourraient conduire à la mise au point dans le futur proche d'une formulation pesticide biologique appropriée, avec une technique viable socialement, économiquement et écologiquement, pour la durabilité de la sériciculture.

EFFECT OF REFRIGERATION OF NON-DIAPAUSE EGGS OF THE MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

RAVINDRA SINGH*, R. NIRUPAMA & D. GANGOPADHYAY**

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

Non-diapause eggs of two polyvoltine silkworm breeds namely, AGL₃ and AGL₅ and two polyvoltine × bivoltine hybrids namely, AGL₃ × CSR₂ and AGL₅ × CSR₂ were refrigerated at 5°C for 20 and 40 days by adopting two step refrigeration method. Rearing performance of 20 and 40 days refrigerated eggs demonstrated no significant difference for majority of economic characters. Importance of longer duration refrigeration of non-diapause eggs has been discussed.

Keywords: *Bombyx mori* L., non-diapause eggs, polyvoltine, refrigeration

INTRODUCTION

Currently, refrigeration of non-diapause eggs is being carried out for a maximum period of 20 days. Thirty six to 40 hours old non-diapause eggs can be safely refrigerated at 5°C for 20 days (Tazima, 1978). In India, bulk of the silk production is from polyvoltine × bivoltine hybrids popularly known as cross breed (Datta *et al.*, 2001). During the demand season, sometimes, it is not possible to fulfill the entire requirement of cross breed eggs. Some efforts have been made to determine the safe period of refrigeration of polyvoltine (Datta *et al.*, 1972; Narayanaswamy and Govindan, 1993; Yu *et al.*, 1993; Meera Verma and Chauhan, 1996) and polyvoltine × bivoltine eggs (Manjula and Hurakadli, 1993; Hurakadli *et al.*, 1998; Rajanna *et al.*, 2007). In the present study, an attempt was made to know the safe period of refrigeration of newly developed polyvoltine and polyvoltine × bivoltine silkworm eggs by following two step refrigeration method.

MATERIALS AND METHODS

Two newly developed polyvoltine silkworm breeds viz., AGL₃ and AGL₅ and one bivoltine breed CSR₂ were utilized in the present study. Parental silkworm breeds along with two polyvoltine × bivoltine hybrids viz., AGL₃ × CSR₂ and AGL₅ × CSR₂ were reared with three replications each and 300 larvae were retained in each replication. Forty disease free layings (Dfls) were prepared for both parental breeds and hybrids. Eggs of parental and hybrids were divided into two batches. After 48 hours of oviposition, eggs of both batches were kept at an intermediate temperature of 15 °C for 24 hours and kept at 5°C for a period of 20 days. After 20 days, the first batch eggs were kept at 15°C for 12 hours and shifted to 25°C and rearing was conducted. Eggs of the second batch were kept at 15°C for 48 hours and again kept at 5°C for another period of 20 days. Rearing of both the batches was done in controlled environmental conditions (25° C room temperature and 70 ± 5 % relative humidity).

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

** Present address: National Institute of Science Technology and Development Studies, New Delhi - 110 012, India

Table I. Rearing performance of polyvoltine and polyvoltine × bivoltine hybrids of the silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau I. Performance d'élevage des hybrides polyvoltins et polyvoltins × bivoltins du ver à soie *Bombyx mori* L.

Breed/Hybrid	Hatching (%)	Pupation Rate	Cocoon yield / 10,000 larvae by weight (Kg)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Cocoon shell percentage	Filament length (m)	Neatness (p)
Lignée / Hybride	Eclosion (%)	Taux de nymphose	Rendement en cocons / 10 000 larves en poids (kg)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	% de richesse soyeuse	Longueur du filament (m)	Netteté (p)
AGL ₃ (R ₁)	91.21	89.60	11.960	1.337	0.237	17.72	652	89.33
AGL ₃ (C)	90.37	88.91	11.976	1.347	0.238	17.66	657	89.33
t test	1.03	0.89	-0.019	-1.661	-0.371	0.51	-0.09	0.00
AGL ₃ (R ₂)	94.00	91.30	12.300	1.347	0.343	18.04	657	89.33
AGL ₃ (C)	94.19	92.11	12.387	1.345	0.241	17.92	661	89.33
t test	-0.21	-1.39	-0.099	0.007	0.097	0.51	-0.39	0.00
AGL ₅ (R ₁)	91.16	89.10	12.470	1.381	0.251	18.17	669	89.67
AGL ₅ (C)	92.37	90.23	12.479	1.383	0.252	18.22	673	89.77
t test	-1.29	-0.97	-0.067	-0.009	-0.005	-0.31	-0.27	-0.19
AGL ₅ (R ₂)	93.90	90.70	12.750	1.399	0.255	18.22	684	89.33
AGL ₅ (C)	95.21	91.27	12.668	1.388	0.251	18.08	677	89.33
t test	-2.23	-1.47	0.129	0.069	0.021	0.49	0.33	0.00
AGL ₃ × CSR ₂ (R ₁)	93.01	93.80	18.240	1.909	0.389	20.37	866	91.33
AGL ₃ × CSR ₂ (C)	92.95	95.13	17.961	1.888	0.387	20.49	871	91.33
t test	0.69	-3.17	1.253	0.327	0.043	-0.51	-0.41	0.00
AGL ₃ × CSR ₂ (R ₂)	94.17	96.40	18.470	1.921	0.392	20.42	899	91.33
AGL ₃ × CSR ₂ (C)	95.33	95.67	18.512	1.935	0.396	20.46	903	91.33
t test	-1.39	1.45	-0.789	-0.081	-0.043	-0.34	-0.61	0.00
AGL ₅ × CSR ₂ (R ₁)	91.77	94.11	18.160	1.925	0.392	20.36	948	90.67
AGL ₅ × CSR ₂ (C)	92.11	95.21	18.191	1.931	0.395	20.45	953	90.67
t test	-1.23	-0.83	-0.073	-0.055	-0.021	-0.43	-0.37	0.00
AGL ₅ × CSR ₂ (R ₂)	92.93	96.10	18.510	1.926	0.398	20.67	961	91.33
AGL ₅ × CSR ₂ (C)	93.67	95.77	18.513	1.933	0.401	20.74	967	91.33
t test	-1.44	1.09	-0.047	-0.061	-0.025	-0.031	-0.07	0.00

(R₁) denotes refrigerated for 40 days / *refrigérés pendant 40 jours*; (R₂) denotes refrigerated for 20 days / *refrigérés pendant 20 jours* and (C) denotes without refrigeration. / *sans réfrigération*.

Data were recorded for eight characters namely, hatching %, pupation rate, yield/10,000 larvae by weight, cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell percentage, filament length and neatness. Comparison was made between 20 and 40 days refrigerated batches.

RESULTS AND DISCUSSION

Rearing performance of two polyvoltine silkworm breeds AGL₃ and AGL₅ and two polyvoltine × bivoltine hybrids AGL₃ × CSR₂ and AGL₅ × CSR for eight characters has been given in Table I. It is clear from the Table I that there was no significant difference for majority of economic characters except cocoon shell percentage in AGL₃ (control) and filament length in AGL₃ × CSR₂ (control) by refrigeration of non-diapause eggs up to 40 days following two step refrigeration method. Refrigeration of non-diapause eggs for 20 to 22 days at 5 °C had no side effect on hatching and rearing (Datta *et al.*, 1972). Refrigeration of non-diapause eggs for more than 20 days showed a decline in hatching percentage (Narayanaswamy and Govindan, 1987). However, no adverse effect on hatching was observed when non-diapause eggs were refrigerated up to 30 days at 5 °C (Tayade *et al.*, 1987).

More than 90 % hatching was observed when the eggs of polyvoltine breed and polyvoltine × bivoltine hybrid were refrigerated at 5 °C on first and second day of oviposition (Manjula and Hurakadli, 1993). No adverse effect on rearing performance was observed following refrigeration of non-diapause eggs at 5 °C up to 30 days (Meera Verma and Chauhan, 1996). By adopting two step refrigeration method, there will be reduction in the maintenance cost of polyvoltine silkworm genetic resources through reduction in the frequency of rearing in a year and supply of required amount of polyvoltine × bivoltine eggs to the farmers can be made specially during the demand seasons.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors wish to thank the Director, Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore for providing necessary facilities.

REFERENCES

- DATTA R. K., RAO D. R., JAYASWAL K. P., PREMALATHA V. & RAVINDRA SINGH (2001) Heterosis in relation to combining ability in multivoltine and bivoltine strains of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 40 (1), 1-6.
- DATTA R. K., SENGUPTA K. & BISWAS S. N. (1972) Studies on the preservation of multivoltine silkworm eggs at low temperature. Indian J. Seric., 11 (1), 22-27.
- HURAKADLI H. K., VEERESHY S., VENKATARAM & DANDIN S. B. (1998) Safe period of cold storage of multi × bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) eggs for tropics. Indian J. Seric., 37 (2), 123-126.
- MANJULA A. & HURAKADLI H. K. (1993) Effect of cold storage of multivoltine and multi × bivoltine eggs, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) at low temperature on hatching performance. Sericologia, 33 (4), 615-620.
- MEERA VERMA & CHAUHAN T. P. S. (1996) Effect of long term refrigeration of eggs on hatching and rearing performance of some polyvoltine silkworm accessions *Bombyx mori* L. in Northern India. Sericologia, 36 (2), 249-253.
- NARAYANASWAMY T. K. & GOVINDAN R. (1993) effect of refrigeration of eggs of Pure Mysore race of silkworm, *Bombyx mori* L. at blue egg stage. Entomon, 12 (2), 105-107.
- RAJANNA K. L., PRABHAKAR C. J. & KAMBLE C. K. (2007) Refrigeration of non-diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Exp. Zool. India, 10 (1), 79-82.
- TAYADE D. S., JAWALE M. A. & UNCHEGAONKAR P. K. (1987) Effect of refrigeration on hatchability of eggs of multivoltine race, *Bombyx mori* L. Sericologia, 27 (2), 297-299.
- TAZIMA Y. (1978) In: *Silkworm Egg*, Central Silk Board, Bombay, 2nd Edition, pp. 1-47.

YU S. J., CHEN J. S. & HSIEH F. K. (1993) Studies on the preservation of eggs of the multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. Chinese J. Entomol. 13 (2), 141-149.

EFFET DE LA REFRIGERATION D'ŒUFS DU VER A SOIE DU MURIER, *BOMBYX MORI* L. SANS DIAPAUSE

RAVINDRA SINGH*, R. NIRUPAMA & D. GANGOPADHYAY**

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

On a réfrigéré des œufs sans diapause de deux lignées de vers à soie polyvoltins, à savoir AGL₃ et AGL₅ et de deux hybrides polyvoltins × bivoltins, à savoir AGL₃ × CSR₂ et AGL₅ × CSR₂, à 5° C pendant 20 et 40 jours, en adoptant une méthode de réfrigération en deux étapes. La performance d'élevage des œufs réfrigérés pendant 20 et 40 jours ne présente pas de différence significative pour la plupart des caractères économiques. Nous évoquons l'importance d'une plus longue durée de réfrigération des œufs sans diapause.

INTRODUCTION

A l'heure actuelle, on procède à la réfrigération des œufs sans diapause pendant une période maximum de 20 jours. On peut réfrigérer sans risque les œufs sans diapause âgés de 36 à 40 heures à 5° C pendant 20 jours (Tazima, 1978). En Inde, la plupart de la production de soie provient d'hybrides polyvoltins × bivoltins populairement connus comme des « crossbreeds » (Datta et coll., 2001). Pendant la saison de demande, il n'est parfois pas possible de répondre à tous les besoins en œufs hybrides. Certains efforts ont été entrepris pour déterminer le délai de réfrigération des œufs polyvoltins (Datta et coll., 1972 ; Narayanaswamy et Govindan, 1993 ; Yu et coll., 1993 ; Meera Verma et Chauhan, 1996) et polyvoltins × bivoltins sans risque (Manjula et Hurakadli, 1993 ; Hurakadli et coll., 1998 ; Rajanna et coll., 2007). Dans cette étude, on a essayé de déterminer le délai de réfrigération sans risque des œufs de ver à soie polyvoltins et polyvoltins × bivoltins venant de se développer, en suivant la méthode de réfrigération en deux étapes.

MATERIELS ET METHODES

Dans cette étude, on utilise deux lignées de ver à soie polyvoltins venant d'être mises au point, c'est-à-dire AGL₃ et AGL₅ et une lignée bivoltine CSR₂. On élève les lignées de ver à soie parentales ainsi que deux hybrides polyvoltins × bivoltins, c'est-à-dire AGL₃ × CSR₂ et AGL₅ × CSR en trois répétitions et on retient 300 larves dans chaque répétition. On prépare quarante pontes saines pour les deux lignées parentales et les hybrides. On divise les œufs des parents et des hybrides en deux lots. Quarante huit heures après la ponte, on conserve les œufs des deux lots à une température intermédiaire de 15° C pendant 24 heures et on les conserve à 5° C pendant une période de 20 jours. Au bout de 20 jours, on conserve le premier lot d'œufs à 15° C pendant 12 heures et on le transfère à 25° C et on procède à l'élevage. On conserve les œufs du deuxième lot à 15° C pendant 48 heures et on les conserve à 5° C pendant une autre période de 20 jours. On procède à l'élevage des deux lots

* Adresse actuelle : Regional Sericultural Research Station, Jorhat – 785 005, Assam, Inde.

** Adresse actuelle : National Institute of Science Technology and Development Studies, New Delhi – 110 012, Inde.

dans des conditions environnementales contrôlées (25° C à température ambiante et 70 ± 5 % d'humidité relative).

On enregistre les données pour huit caractères à savoir le % d'éclosion, le taux de nymphose, le rendement / 10 000 larves en poids, le poids du cocon, le poids de la coque soyeuse, la richesse soyeuse, la longueur du filament et la netteté. On procède à des comparaisons entre des lots réfrigérés pendant 20 et pendant 40 jours.

RESULTATS ET DISCUSSION

La performance d'élevage des deux lignées de vers à soie polyvoltins AGL₃ et AGL₅ et des deux hybrides polyvoltins × bivoltins AGL₃ × CSR₂ et AGL₅ × CSR pour huit caractères est présentée dans le Tableau I. Il est clair d'après le Tableau I qu'il n'y a pas de différence significative pour la plupart des caractères économiques, sauf pour la richesse soyeuse chez AGL₃ (témoin) et pour la longueur du filament chez AGL₃ × CSR₂ (témoin) lors de la réfrigération des œufs sans diapause jusqu'à 40 jours, en suivant une méthode de réfrigération en deux étapes. La réfrigération des œufs sans diapause pendant 20 à 22 jours à 5° C n'a pas d'effet secondaire sur l'éclosion et l'élevage (Datta et coll., 1972). La réfrigération des œufs sans diapause pendant plus de 20 jours montre un déclin du pourcentage d'éclosion (Narayanaswamy et Govindan, 1987). Cependant, on n'observe pas d'effet négatif sur l'éclosion quand on réfrigère les œufs sans diapause jusqu'à 30 jours à 5° C (Tayade et coll., 1987).

On observe une éclosion de plus de 90 % quand on réfrigère les œufs de la lignée polyvoltine et de l'hybride polyvoltin × bivoltin à 5° C le premier et le deuxième jour après la ponte (Manjula et Hurakadli, 1993). On n'observe pas d'effet négatif sur la performance d'élevage en réfrigérant les œufs sans diapause à 5° C jusqu'à 30 jours (Meera Verma et Chauhan, 1996). En adoptant une méthode de réfrigération en deux étapes, on peut obtenir une baisse du coût de maintien des ressources génétiques du ver à soie polyvoltin par la diminution de la fréquence d'élevage sur une année et la fourniture de la quantité nécessaire d'œufs polyvoltins × bivoltins aux fermiers peut être assurée, surtout pendant les saisons de demande.

DIFFERENTIAL ABILITY OF DIFFERENT NATURAL ESSENTIAL OILS COMBINED WITH SPEARMINT OIL FOR THE MANAGEMENT OF UZI FLY

B. M. PRAKASH^{1,2}, SUMITHRA¹, H. RAVIKUMAR³, & H. P. PUTTARAJU^{1,3}

1. Laboratory of Seribiotechnology, Department of Sericulture, Bangalore University, Bangalore – 560 056, India.
2. Evolutionary Biology Laboratory, Evolutionary and Organismal Biology Unit, Jawaharlal Nehru Center for Advance Scientific Research, Jakkur, Bangalore 560 064, India.
3. Department of Biological Sciences, Bangalore University, Bangalore – 560 056, India.

Uzi fly, *Exorista sorbillans* (= *E. bombycis*), a tachinid endoparasite of silkworm *Bombyx mori* L, causes considerable loss to sericulture industry. There are number of methods available to curtail this notorious pest but none of them yielding expected results. Here an attempt has been made to repel uziflies from rearing environment with the use of different essential oils in combination with spearmint oil. Individually the spearmint oil showed very good repellent at lower concentration, therefore, six essential oils [Lavender oil, Boroneol, Eucalyptus oil, Pine oil, Thyme oil and Citronella (they are cheaper compared to spearmint oil)] combined with spearmint oil were screened against uzifly during morning, afternoon and evening hours. The results revealed that, the biological efficacy of repellents in combination showed excellent repellent property during morning and afternoon hours at lower concentration when compared to efficacy of individual essential oils, while it was moderate repellency during evening hours. From the results it is suggested that the natural essential oils has all acquired potential to minimize uzifly infestation on silkworm, as a component of IPM.

Keywords: Uziflies, combination of essential oils, repellent property

INTRODUCTION

Indian sericulture dealing with all the four types of silkworm varieties, viz., mulberry, eri, tasar and muga culture, which gives employment to over six million Indian people (Dandin *et al.*, 2001). All these silkworms are attacked by number of pests and parasitoids that cause major obstacle to the growth of the industry, pests alone causing 20-25% yield loss in India (Sengupta *et al.*, 1990). Uzi fly a tachinid obligate endoparasite of silkworm, *Bombyx mori* alone causes 10-15% yield loss to mulberry sericulture (Narasimharao, 1992). The uzi fly, *E. sorbillans* (*E. bombycis*) also reported to infest tasar silkworm (Venkatachalapathy *et al.*, 1999). Despite the fact that the conventional chemical methods of pest control have several limitations viz., the development of resistance, persistence residue, contamination of food and water resources, environmental degradation, secondary outbreaks due to elimination of natural enemies etc., use of chemical pesticides continue to be widely adopted and remained to be the mainstay of insect pest control.

With the increased awareness of integrated pest management to minimize the use of pesticides, other effective and environmental friendly methods such as biological control, host resistance, bio pesticides, plant materials etc., are being adopted and this trend has gained momentum in recent years. The conventional biocontrol involves more or less the establishment of food chain against the target pests through introduction /release /inundation of parasites and parasitoids. In this line, we have evolved a method of biocontrol to minimize the uzi fly infestation (Puttaraju and Prakash, 2005a, b,

c; Prakash and Puttaraju, 2006). However, the other successive biocontrol agent, which has promising avenue to control insect pests include the exploitation of natural plant products such as essential oils, plant extracts from leaves, fruits seed, roots, etc. to develop suitable IPM package for the management of uzifly.

Keeping this in view, it was thought to study the combining efficacy of essential oils of natural origin for the control of the uzi fly. The efficacy of individual essential oils was published elsewhere (Puttaraju *et al.*, 2005). These include spearmint oil (comparatively costly) combining with six essential oils (comparatively lower cost) viz., lavender oil, boroneol, eucalyptus oil, pine oil, terpineol and citronella have been utilized in the present investigation. These oils are normally obtained by steam distillation of plant parts such as roots/ barks/ heart wood / leaves (Tawatsin *et al.*, 2001).

MATERIALS AND METHODS

The uzi fly populations in laboratory were maintained by feeding with 8% glucose soaked in cotton balls in a small petri-dishes, where they metamorphose into pupae and adults (Puttaraju and Prakash, 2005b, c). These were originally collected from cocoon market of Ramanagara, Bangalore during June, 2002. The uzifly strains were reared in mass condition in rearing cages of size 35 × 35 × 35 cm at 25 ± 1°C and relative humidity of 65–70%, with a 12:12 hour light: dark conditions. The flies were sexed based on genitalia and other morphological sex specific characters and reared in the separate cages.

Simultaneously the stock solution-I of the natural essential oils was prepared as follows. Seven ml of active ingredient (natural oils) was dissolved in 3 ml of anionic detergent of that particular essential oil. The spearmint oil of 50% was combined with 50% of Lavender oil, Boroneol, Eucalyptus oil, Pine oil, Thyme oil and citronella. The stock solution-II was prepared by taking 3 to 7 ml of these combined essential oils diluted with 93-97 ml of water. Then 5 × 15 cm stripes of blotting paper were soaked in natural oils of different concentrations and waved in the direction opposite to the flow of wind in front of the cages (Puttaraju *et al.*, 2005). The data on combined repelling efficiency were recorded by visual observation thrice a day for the period of two weeks as shown in the table I, II and III.

The repelling efficiency of different essential oil's were measured based on the percentage of flies repelled from one side of the cage to another when the blotting paper strips dipped in essential oil combined with spearmint oil were waved as A- 100% repellency (Excellent repellent); B⁺⁺ - 90 to 98% repellency (Better than B⁺); B⁺ - 75 to 89% repellency (better than B); B - 60 to 74% repellency (good repellency); C⁺⁺ - 45 to 59% (better than C⁺); C⁺ - 30 to 44% (better than C) and C - 15 to 29% (Show repelling efficiency) (Puttaraju, *et al.*, 2005).

RESULTS AND DISCUSSIONS

The results revealed that, combinations of spearmint oil with Lavender oil, Boroneol, Eucalyptus oil, Pine oil, Thyme oil and Citronella showed differential efficacy against uzi fly repellency. During morning hours, Lavender oil, Boroneol and Eucalyptus oil at 3-7% shows excellent repellency in combination with spearmint oil. While Pine oil, Thyme oil and Citronella showed moderate repellency at 3-7% when compared to other essential oils which are tested against uzi flies, but individually, all the six essential oils shows moderate repellency (Puttaraju *et al.*, 2005). However, pine oil with spearmint oil shows increased repellency with increased concentrations. While thyme oil and citronella show moderate repellency with spearmint oil in all the concentrations (Table I)

The efficacy of combined essential oil's was excellent during afternoon hours, when compared to morning hour where they exhibited good repellency and during evening hours where moderate repellency was exhibited (Table II). All the concentrations have shown excellent repellency, this may

be due to the increased active molecular concentrations at higher temperature (After noon hours the temperature is relatively higher than during morning or evening hours) which maximize the efficacy against uzifly repellency. The extent of repelling efficacy depended on good evaporation of repellent and it can be explained by the chemical structure of individual compounds as described by Milutinovic *et al.* (2002).

The efficacy of combined essential oils during evening hours shows differential effects on uzifly repellency. The Lavender oil and pine oil with spearmint oil shows excellent repellency at 3 and 4%. While 5 and 6 % shows good repellency, but in 7% both of which exhibit contrasting effects (Table III).

Table I. Combining efficacy of different essential oils with spearmint oil during morning hours.

Tableau I. Efficacité combinée de différentes huiles essentielles avec l'huile de menthe verte pendant les heures de la matinée.

Sl. No. Compounds		Percentage composition				
No. de Composés série		Composition en pourcentage				
		3%	4%	5%	6%	7%
1	Spearmint oil + Lavender oil <i>Huile de menthe verte + huile de lavande</i>	A	A	A	A	A
2	Spearmint oil + Boroneol <i>Huile de menthe verte + Bornéol</i>	B	A	A	A	A
3	Spearmint oil + Eucalyptus oil <i>Huile de menthe verte + huile d'eucalyptus</i>	A	A	A	A	A
4	Spearmint oil+ Pine oil <i>Huile de menthe verte + huile de pin</i>	A	C	B	B++	B+
5	Spearmint oil+ Thyme oil <i>Huile de menthe verte + huile de thym</i>	B	B+	B	B	B+
6	Spearmint oil+ Citronella <i>Huile de menthe verte + citronnelle</i>	B	B+	A	B	B+

A - 100% repellency / 100 % de repulsion ;

B⁺⁺ - 90 to 99 % repellency / 90 à 99 % de répulsion ;

B⁺ - 75 to 89 % repellency / 75 à 89 % de répulsion ;

B - 60 to 74% repellency / 60 à 74 % de répulsion ;

C⁺⁺ - 45 to 59 % repellency / 45 à 59 % de répulsion ;

C⁺ - 30 to 44% repellency / 30 à 44 % de répulsion ;

C - 15 to 29% repellency / 15 à 29 % de répulsion.

Table II. Combining efficacy of different essential oils with spearmint oil during afternoon hours.

Tableau II. Efficacité de différentes huiles essentielles combinées avec l'huile de menthe verte pendant les heures de l'après-midi.

Sl. No.	Compounds	Percentage composition				
No. de séries	Composés	Composition en pourcentage				
		3%	4%	5%	6%	7%
1	Spearmint oil + Lavender oil <i>Huile de menthe verte + huile de lavande</i>	A	A	A	A	A
2	Spearmint oil + Boroneol <i>Huile de menthe verte + Bornéol</i>	B++	A	B+	A	B+
3	Spearmint oil + Eucalyptus oil <i>Huile de menthe verte + huile d'eucalyptus</i>	A	A	A	A	A
4	Spearmint oil+ Pine oil <i>Huile de menthe verte + huile de pin</i>	A	B++	A	A	A
5	Spearmint oil+ Thyme oil <i>Huile de menthe verte + huile de thym</i>	B++	A	A	A	A
6	Spearmint oil+ Citronella <i>Huile de menthe verte + citronnelle</i>	A	A	A	A	B++

Table III. Combining efficacy of different essential oils with spearmint oil during evening hours.

Tableau III. Efficacité de différentes huiles essentielles combinées avec l'huile de menthe verte pendant les heures de la soirée.

Sl. No.	Compounds	Percentage composition				
No. de séries	Composés	Composition en pourcentage				
		3%	4%	5%	6%	7% ^u
1	Spearmint oil + Lavender oil <i>Huile de menthe verte + huile de lavande</i>	A	A	B++	B+	A
2	Spearmint oil + Boroneol <i>Huile de menthe verte + bornéol</i>	A	A	A	B++	B+
3	Spearmint oil + Eucalyptus oil <i>Huile de menthe verte + huile d'Eucalyptus</i>	A	A	A	B++	B
4	Spearmint oil+ Pine oil <i>Huile de menthe + Huile de pin</i>	A	A	B+	B++	C
5	Spearmint oil+ Thyme oil <i>Huile de menthe verte + huile de thym</i>	B	B+	B++	C	B+
6	Spearmint oil+ Citronella <i>Huile de menthe verte + citronnelle</i>	C+	C++	B++	B+	B

These results also demonstrate that, like individual essential oils, all the tested combinations of essential oils, the females have higher degree of repellency when compared to males. The data on repelling efficiency of essential oils with combinations confirmatively predicts that, the degree of repelling efficiency depends on the available climatic conditions (Milutinovic *et al.*, 2002) as it is evident from increased repelling efficiency during midday in the present study. The Lavender oil, Boroneol and Eucalyptus oil evolved as potential repellents in repelling uziflies.

REFERENCES

- BARNARD D.R., 1999, Repellency of essential oils to mosquitoes (Diptera: Calicidae). *Journal Medical Entomology*. 36(5): 625-629.
- DANDIN S.B., JAYASWAL J., GRIDHAR K., 2001, *Hand Book of Sericulture Technologies*. Pub: P. Joy Oomen, CSB Complex. Bangalore.
- MANJUNATHA H.B., 1993, *Morphological and cytological investigation on the Uzi fly, Exorista bombycis*. Ph. D. Thesis, Bangalore University: Bangalore.
- MILUTINOVIC R., STAJKOVIC N., MILIK J., 2002, Assessment of efficiency of repellent preparations containing Ethylbutylacetylaminopropionate. *Cosmetics*. 128: 14-16.
- NARASHIMHA RAO G., VEERANNA., PRASAD N. R., 1992, Studies on the infestation of *Exorista sorbillans* on *Bombyx mori*. L. 1. Incidence during monsoon season. In: *Recent Adv. Uzi fly Res.* pp 49-56.
- PUTTARAJU H.P., PRAKASH B.M., 2005a, *Wolbachia* and reproductive conflicts in the uzi fly, *Exorista sorbillans* (Diptera: Tachinidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* (USA). 60(4): 230-235.
- PUTTARAJU H.P., PRAKASH., B.M., 2005b, Effects of *Wolbachia*-Targeted tetracycline on Host-parasitoid-symbiont interaction. *European Journal of Entomology*. 102(4): 669 -674.
- PUTTARAJU H.P., PRAKASH B.M., 2005c, Effects of *Wolbachia* in the uzi fly, *Exorista sorbillans*, a parasitoid of the silkworm *Bombyx mori*. *Journal of Insect Science*. (USA). 5:30, available online at www.insectscience.org/5.30.
- PUTTARAJU H.P., PRAKASH B.M., SUMITHRA., GURUPRASAD N.M., 2005, Screening of natural essential oils for uzi fly management. *Sericologia* (France). 54(4): 475-479.
- SENGUPTHA K., PRADIP KUMAR., BAIG M., GOVINDAIAH., 1990, *Hand Book on pest and disease control of Mulberry and silk worm*. United Nations Publication, Bangkok, Thailand.
- TAWATSIN A., WRATTEN S. D., SCOTT R.R., THAVARA V., TECHADAMRAGSIN Y., 2001, Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology*. 26(1): 6-82.
- VENKATACHALAPATHY M., IBOHAL SINGH N., PRASAD B., 1999, Uzifly menace on oak tasar silkworm in Manipur. *Indian Silk*. 37(9): 17-19.

CAPACITE DIFFERENTIELLE DE DIFFERENTES HUILES ESSENTIELLES NATURELLES ASSOCIEES A L'HUILE DE MENTHE VERTE POUR LUTTER CONTRE LA MOUCHE UZI

B. M. PRAKASH^{1,2}, SUMITHRA¹, H. RAVIKUMAR³ & H. P. PUTTARAJU^{1,3}

1. Laboratory of Seribiotechnology, Department of Sericulture, Bangalore University, Bangalore – 560 056, Inde.
2. Evolutionary Biology Laboratory, Evolutionary and Organismal Biology Unit, Jawaharal Nehru Center for Advance Scientific Research, Jakkur, Bangalore 560 064, Inde.
3. Department of Biological Sciences, Bangalore University, Bangalore – 560 056, Inde.

La mouche uzi, Exorista sorbillans (= E. bombycis), un endoparasite tachinaire du ver à soie, Bombyx mori L. entraîne des pertes considérables pour l'industrie séricicole. Il existe un certain nombre de méthodes pour limiter ce parasite notoire, mais aucune d'elles ne donne les résultats attendus. Nous avons donc essayé de repousser les mouches uzi de l'environnement d'élevage en utilisant différentes huiles essentielles en association avec l'huile de menthe verte. L'huile de menthe verte seule est un très bon répulsif à une faible concentration, on a donc évalué six huiles essentielles [huile de lavande, de bornéol, d'eucalyptus, de pin, de thym et de citronnelle, qui sont moins chères que l'huile de menthe verte] associées à l'huile de menthe verte contre la mouche uzi, pendant les heures de la matinée, de l'après midi et du soir. Les résultats révèlent que l'association des répulsifs est efficace pendant les heures de la matinée et de l'après midi à une concentration plus faible, par comparaison à l'efficacité des huiles essentielles utilisées individuellement, tandis que la répulsion est modérée pendant les heures de la soirée. D'après les résultats, on suggère que les huiles essentielles naturelles ont toutes un potentiel de minimisation de l'infestation par la mouche uzi chez le ver à soie, en tant que composantes de l'IPM.

INTRODUCTION

La sériciculture indienne englobe les quatre types de variétés de ver à soie, c'est-à-dire l'élevage du mûrier, de l'eri, du tasar et du muga et fournit un travail à plus de six millions d'Indiens (Dandin et coll., 2001). Tous ces vers à soie sont attaqués par un certain nombre de parasites et de parasitoïdes qui représentent un obstacle majeur à la croissance de l'industrie, les parasites à eux seuls provoquant une perte de rendement de l'ordre de 20 à 25 % en Inde (Sengupta et coll., 1990). La mouche uzi, un tachinaire endoparasite obligé du ver à soie, *Bombyx mori*, provoque à elle seule 10 à 15 % de perte de rendement dans la sériciculture mûrier (Venkatachalapathy et coll., 1999). Malgré le fait que les méthodes chimiques conventionnelles de lutte contre les parasites ont plusieurs limites, comme le développement de la résistance, la persistance des résidus, la contamination des sources d'alimentation et d'eau, la dégradation environnementale, les éruptions secondaires à cause de l'élimination des ennemis naturels, etc., l'utilisation des pesticides chimiques continue à être largement adoptée et reste le pilier de la lutte contre les parasites.

Avec l'augmentation de la prise de conscience concernant la gestion intégrée des parasites pour minimiser l'utilisation des pesticides, d'autres méthodes efficaces et respectueuses de l'environnement, telles que la lutte biologique, la résistance de l'hôte, les biopesticides, les matériels à base de plantes sont adoptées et cette tendance gagne du terrain depuis quelque temps. La lutte biologique conventionnelle implique plus ou moins l'établissement d'une chaîne alimentaire contre

