

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

Publiée par la Commission Séricicole Internationale
Published by the International Sericultural Commission
26, rue Bellecordière - 69002 Lyon - 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*)
FONSECA T.C. (Brésil / *Brazil*)
FREDDI G. (Italie / *Italy*)
GOLDSMITH M.R. (USA)
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*)
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*)

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published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in SERICOLOGIA, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.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 × 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.

SOMMAIRE - CONTENTS

Revue / Reviews

- Sericulture development in Guangxi** 285
 Le développement séricicole à Guangxi 293
 LI LONG, REN YONGLI, DOU YONGQUN, ZHANG JIAN, QI GUANGJUN,
 BI LIHUI & HU LESHAN
- A review on the larval resistivity and disinfection of the nuclear polyhedrosis virus of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L in India** 297
 Revue sur la résistivité larvaire et la désinfection du virus de la polyédrose nucléaire du ver à soie mûrier, *Bombyx mori* L. en Inde 313
 S. MANIMEGALAI

Articles scientifiques / Scientific papers

- Differential impact of UDP-N-acetylglucosamine analog on nucleopolyhedrovirus infection between *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) and *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)** 323
 Impact différentiel de l'analogue d'UDP-N-acétylglucosamine sur l'infestation par le virus de la polyédrose nucléaire chez *Bombyx mori* (Lépidoptère : Bombycidés) et chez *Spodoptera litura* (Lépidoptère : Noctuidés) 329
 TORU ARAKAWA, FUMIKO YUKUHIRO, OSAMU NAMBA, KEN TATEISHI & HIROAKI NODA
- Influence of antibiotics and probiotics on endogenous gut microflora in silkworm *Bombyx mori*** 333
 Influence des antibiotiques et des probiotiques sur la microflore endogène de l'intestin chez le ver à soie, *Bombyx mori* 343
 S. SUBRAMANIAN, P. MOHANRAJ, S. SIVAKUMAR & M. MUTHUSWAMI
- Sericin of *Bombyx mori* as a reducing and capping agent in the preparation of silver nanoparticles** 351
 La sérécine de *Bombyx mori* comme agent réducteur et enrobant dans la préparation de nanoparticules d'argent 355
 S. NIVEDITA, PRAKSAH N. BHAT & SUBRATA ROY
- Reporting of a new gene "Inhibitor of diapause" (Id) in the silkworm, *Bombyx mori* L.** 359
 Rapport sur un nouveau gène "Inhibiteur de la diapause" (Id) chez le ver à soie, *Bombyx mori* L. 365
 RAJENDRA MUNDKUR, MALLESHA MURTHY, R. LATHA, S. KRISHNA RAO & B. M. SEK HARAPPA

Rapports techniques / Technical reports

- Sex preference in host parasitisation of *Xanthopimpla pedator* Fabricius (Hymenoptera: Ichneumonidae) a major parasitoid of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury . . . 369**
Préférence sexuelle dans le parasitisme de l'hôte par *Xanthopimpla pedator* Fabricius (Hyménoptère : Ichneumonidés), un parasitoïde majeur du ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury 375
U. N. SINGH, RAJ NARAIN, D. CHAKRAVORTY & P. N. TRIPATHI
- A review on the influence of water quality on reeling performance and quality of raw silk 379**
Revue sur l'influence de la qualité de l'eau sur la performance de dévidage et sur la qualité de la soie grège 389
ASWATHA REDDY, K. N. MAHESH & S. T. VENU
- Studies on the residual effect of nutrient inputs on mulberry with special emphasis on the gradient application of phosphorus 393**
Etudes sur l'effet résiduel des apports de nutriments chez le mûrier en particulier sur l'application progressive de phosphore 399
R. KAR, P. C. BOSE & A. K. BAJPAI
- Reproductive performance in relation to male and female pupal weights and their combinations in tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury 403**
Performance de reproduction en rapport avec les poids nymphaux mâle et femelle et leurs combinaisons chez le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury 413
R. MANOHAR REDDY, N. SURYANARAYANA, SURESH RAI & N. B. VIJAYA PRAKASH

SERICULTURE DEVELOPMENT IN GUANGXI

LI LONG¹, REN YONGLI¹, DOU YONGQUN¹, ZHANG JIAN¹, QI GUANGJUN²,
BI LIHUI² & HU LESHAN²

1. Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.
2. Sericultural Extension Station, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530007, China.

GEOGRAPHY

1. Location:

Guangxi is located in southern China (104° 26'~112° 04' in east longitude, and between 20° 54'—26° 24' in north latitude), bordered by the Yunnan Province to the west, Guizhou to the north, Hunan to the northeast and Guangdong to the southeast and Vietnam and Beibu Bay to the southwest. Its area is 236,700 square kilometers.

2. Climate:

The climate in the entire region is warm and thermally rich, the year-round average air temperature in the various areas measures between 16.5~23.1 °C, the temperature accumulation at $\geq 10^{\circ}$ C measures between 5000~8300° C; the region is one of the provinces with the highest air temperatures in China; the year-round frost-free period lasts for about 350 days, the average rainfall of the various areas in Guangxi is between 1080~2760 mm.

3. People:

Guangxi is a multi-ethnic region, including Zhuang, Han, Yao, Miao, Dong, Mulam, Maonan, Yi, Shui, and other smaller ethnic minorities. As Guangxi Governmental Statistics, the regional population is 50.49 million in 2008. Among them, the Zhuang is the largest ethnic minority group in the region, which occupied one third of the total population in Guangxi.

4. Administrative divisions:

Guangxi is divided into fourteen prefecture-level cities, fifty-six counties, thirty-four districts, twelve ethnic autonomous counties and seven county-level cities. The fourteen prefecture-level cities are: Nanning (capital the of the region), Baise, Beihai, Chongzuo, Fangchenggang, Guigang, Guilin, Hechi, Hezhou, Laibin, Liuzhou, Qinzhou, Wuzhou, Yulin.

ECONOMY

1. General information:

In recent years, Guangxi's economy has maintained a rapid, steady and balanced development momentum. GDP of Guangxi in 2008 was about 717.2 billion yuan (US\$103 billion) and ranked seventeenth in China. Its per capita GDP was 14,966 yuan (US\$2,155).

2. Agriculture:

Major agricultural crops include rice, maize, wheat, sweet potatoes, peanuts, tobacco, tea, cotton, fruits, mulberry, sugarcane, cassava.

3. Industry:

Major industries include food, metallurgy, motors, petroleum, machinery, electricity, silk, sugar and pharmacy.

SERICULTURE PRODUCTION

1. General Information:

The sericultural production in Guangxi has stepped into an expressway since 2000, in which year Guangxi produced 29,500 tons mulberry cocoons, ranked the sixth place in China. However, only after five years, Guangxi produced 148,000 tons of mulberry cocoons in 2005, becoming number 1 in China and then has won its national championship of production for five consecutive years. In 2007, Guangxi made its highest records in the history on the areas of mulberry fields and the outputs of silkworm cocoons, which respectively measured up to 2.02 million mu (1 hectare=15mu) and 205,000 tons (fig-1); and its output of mulberry silkworm cocoons has exceeded the national output in India, the world's No.2 (fig-2). At present, the output of mulberry silkworm cocoons in Guangxi occupied 27% of the national output.

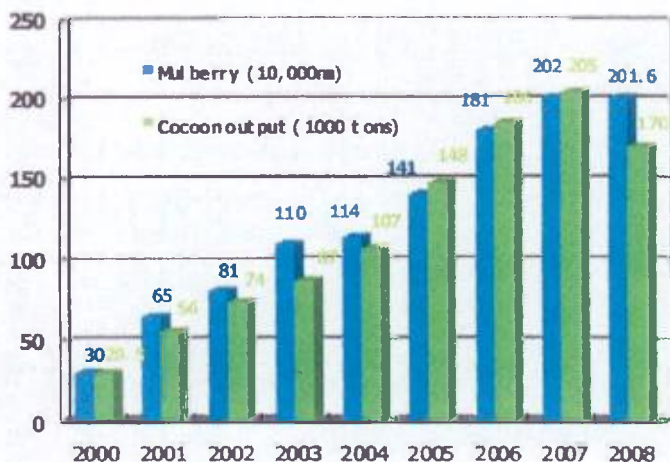


Fig. 1 Mulberry field and Cocoon Production in Guangxi (2000—2008).

Fig. 1. Production de mûriers et de cocons à Guangxi (2000-2008).

2. Sericulture Distribution:

In 2008, the sericulture production in the entire autonomous region covered 83 counties under 13 prefecture-level cities; more than 886,300 farming households were involved in 6,832 villages. The government is highly encouraged to centralize mulberry fields into adjacent belts, to uniform managements, to conduct the methods such as cooperative rearing of young silkworms, huge shed rearing etc, to change the traditional one-household silkworm rearing mode, to continuously upscale, standardize, scientize and cluster mulberry plantations and silkworm rearing. After a work of longue haleine, the sericulture production clustered belts have been preliminarily formed in the five prefecture-level cities i.e. Hechi, Nanning, Laibin, Liuzhou and Guigang. In 2008, the areas of the

mulberry fields in such five cities totaled at 1.200.000 hectares, making up 86.17% of the entire Autonomous Region, the cocoon output totaled at 157,000 tons, making up 91.87% of the entire Autonomous Region (Fig 3).

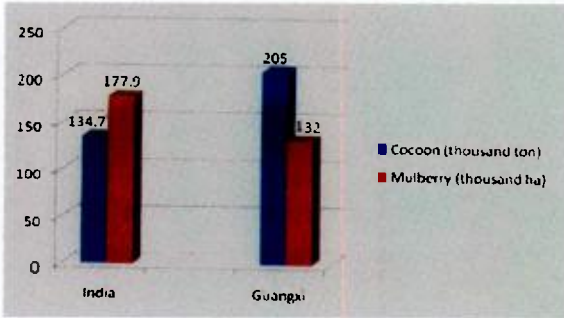


Fig. 2. Mulberry field and Mulberry Cocoon Production in Guangxi and India (2007).

Fig. 2. Production de mûriers et de cocons mûrier à Guangxi et en Inde (2007).



Fig. 3. Major Sericulture Areas (color in green) in Guangxi.

Fig. 3. Principales zones séricicoles (colorées en vert) à Guangxi.

3. Sericulture promotes rural development:

In 2008, the income of sericultural farmers from selling silkworm cocoons measured up to 2.765 billion CNY(1EUR= 8.5577CNY), 136,800 silkworm rearing households made an income at more than 10,000 CNY, and 3,192 households made an income at more than 50,000 CNY.

In 2007, 85,000 sericultural farmers in Yizhou county of Hechi city realized a total income from fresh cocoons of more than 760 hundred million CNY; solely from this income, the average income per capita of the farmers in the entire county amounted to above 1,520 CNY, making up 41.3% of the average net income per capita of the farmers in that year. At Banwei Village of Yizhou county, all the farming households are engaged in sericulture. In 2007, the entire Village raised up to 8,716

boxes of silkworms, produced 550.7 tons of silkworm cocoons, the total income from sericulture amounted to above 1,046,300 CNY, the average household income from rearing silkworms amounted to 24,200 CNY, and the average income per capita amounted to 6,041 CNY.



Fig. 4. Young silkworm rearing center in Guangxi.

Fig. 4. Centre d'élevage de jeunes vers à soie à Guangxi.

Xiangzhou County of Laibin city reared 625,500 boxes of silkworms in 2007, produced a total of 23,460 tons of fresh silkworm cocoons, created a total value of 389 hundred million CNY, the average income of the silkworm rearing households in the entire county amounted to 6,208.4 CNY; whereof 25,687 households created an income of more than 10,000 CNY, 1,123 households created an income of more than 50,000 CNY, and 35 households created an income of more than 100,000 CNY.



Fig. 5. Sericultural Farmer's Houses in Xiangzhou county.

Fig. 5. Maisons de fermiers séricicoles dans le comté de Xiangzhou.

Due to increases in the incomes of the silkworm raisers, the rural, social and economic developments were totally driven in Guangxi, where the residential environments, production conditions and living levels were essentially improved and elevated, where cement roads lead to each village, each family lives in a building, each household has saving deposits, where the villagers are civilized, the administrations are democratic, and good examples are set up for many key silkworm rearing areas to construct new socialist rural areas (fig-5).



Fig. 6. Indian MOT Delegation visit silk reeling mill in Guangxi.

Fig. 6. Visite d'une délégation du MOT indien dans une industrie de dévidage de la soie à Guangxi.

4. Silk Industry:

With the quick development of sericulture, Guangxi silk reeling capacities are increasing rapidly because many silk enterprises such as China National Silk Imp. & Exp. Corporation, Guangdong Silk-Tex (Group) Co. Ltd., Jiangsu SOHO Intl. Group Corp, Jiangsu Huajia Silk Group Corporation, Zhejiang New Silk Road Group Corporation, Zhejiang Huashen Silk Imp. & Exp.Co., Ltd. etc were attracted by the advantages of natural and labor resources in Guangxi, established as solely investors or as joint venture manufactories in silk production in the autonomous region (fig-6).

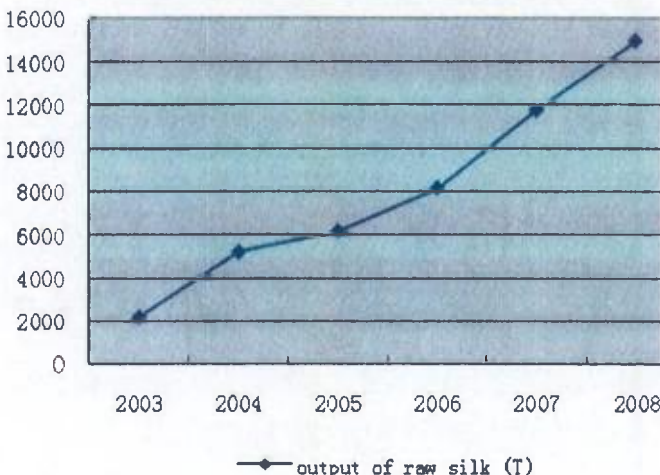


Fig. 7. Production of raw silk in Guangxi.

Fig. 7. Production de soie grège à Guangxi.

In 2003, the silk reeling machines in the entire autonomous region totaled to only 83,000 ends, among them the automatic silk reeling machines made up a ratio of 79%, the annual output of raw silk was of 2,164 tons. By 2008, the silk reeling machines in the entire autonomous region totaled to 223,600 ends, 100% of which are automatic; the annual output of raw silk was of 14,952 tons, a 691% increase from 2003 (Fig-7).

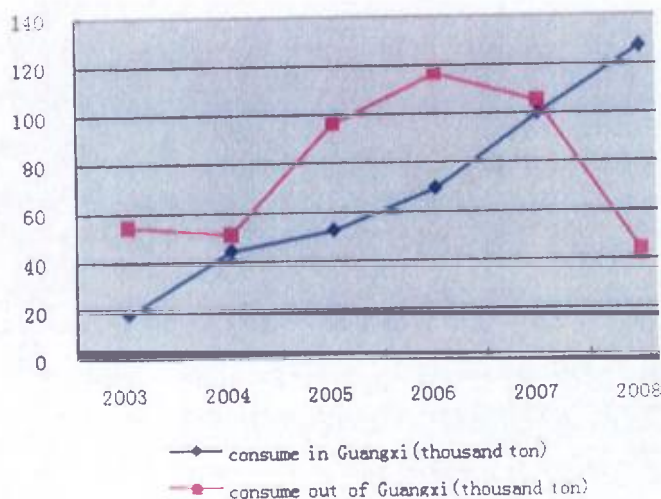


Fig. 8. Flows of silkworm cocoons in Guangxi.

Fig. 8. Flux de cocons de ver à soie à Guangxi.

Meanwhile, Guangxi reeling mills consumed mulberry cocoon only 18.39 thousand tons, 25% out of its total cocoon output and the rest cocoons must be transported and reeled out of Guangxi. However, with development of silk industry, 74% of the silkworm cocoons can be consumed in Guangxi now (Fig-8).

PROSPECT

As described above, Guangxi possess a lot of advantages for the development of sericulture industry.

Firstly, the climate condition in Guangxi is very suitable for growth and development of mulberry trees. The year-round period suitable for silkworm rearing lasts as long as up to 8 months, during which 8~11 batches of silkworms may be raised; the production seasons of sericulture may commence from April and end in November.

Secondly, the farmers in Guangxi become heartily fond of planting mulberry trees and rearing silkworms, their economic effects are higher than the other silkworm rearing regions. As statistically indicated, in 2006, the year-round average output of silkworm cocoons in Guangxi was of 1,542 kg/hectare, much higher than the nationwide average 887.9 kg/hectare; in the major production areas such as Yizhou, Xiangzhou, Liucheng, Hengxian etc, the productivity of many silkworm rearing households has amounted up to 2,250-3,000 kg of silkworm cocoons per hectare.

Thirdly, along with the industrialization and urbanization progresses in the eastern provinces such as Zhejiang, Jiangsu, Guangdong, Shandong etc, the land and labor costs were rising continuously and the traditional productions of cocoon and silk were declining in the eastern region year by year. The "Japanese phenomenon" in the sericulture industry was gradually appearing in the eastern advanced regions in China.

However, the social and economic developments are relatively backward in Guangxi, where the land resources and labor resources are comparatively rich, and where there are ready natural conditions and social foundations for developments of the sericulture industry. According to the governmental reports made by the various provinces, in 2008, the GDP in Jiangsu Province exceeded 3,000 billion CNY, the average expendable income per capita of the residents in cities and towns amounted to 18,680 CNY, the average net income per capita of the rural residents amounted to 7,357 CNY; in Zhejiang Province, the GDP exceeded 2,100 billion CNY, the average expendable income per capita of the residents in cities and towns amounted to 22,727 CNY, the average net income per capita of the rural residents amounted to 9,258 CNY; while in Guangxi Region, the GDP in the entire region amounted to 715 billion CNY, the average expendable income per capita of the residents in cities and towns amounted to 14,000 CNY, the average net income per capita of farmers amounted to 3,700 CNY.

Therefore, it can be deduced that Jiangsu, Zhejiang and Guangdong will gradually give up production of cocoons and raw silk, but keep their advantageous and industrial silk productions; while Guangxi is comparatively advantageous in producing raw cocoon and silk. In the future, Guangxi will become an important supplier of cocoon and raw silk not only in China but also in the world.

LE DEVELOPPEMENT SERICICOLE A GUANGXI

LI LONG¹, REN YONGLI¹, DOU YONGQUN¹, ZHANG JIAN¹, QI GUANGJUN²,
BI LIHUI² & HU LESHAN²

1. Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, Chine.
2. Sericultural Extension Station, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530007, Chine.

GEOGRAPHIE

1. Localisation :

Guangxi est situé dans le sud de la Chine (104° 26' ~ 112° 04' longitude est entre 20° 54' - 26° 24' latitude nord) et bordé par la province du Yunnan à l'ouest, Guizhou au nord, Hunan au nord-est et Guangdong au sud-est et le Vietnam et la Baie de Beibu au sud-ouest. Sa superficie est de 236 700 km².

2. Climat :

Dans l'ensemble de la région, le climat est doux et riche sur le plan thermal, la température moyenne annuelle de l'air dans les différentes zones est comprise entre 16,5 et 23,1° C, l'accumulation de température à + de 10° C est comprise entre 5000 et 8300° C; la région est l'une des provinces à la température de l'air la plus élevée de Chine, la période annuelle sans gel est de 350 jours, les précipitations moyennes dans les différentes zones à Guangxi sont comprises entre 1080 et 2760 mm.

3. Population :

Guangxi est une région multi-ethnique, comprenant des Zhuang, des Han, des Yao, des Miao, des Dong, des Mulam, des Maonan, des Yi, des Shui et d'autres petites minorités ethniques. D'après les statistiques gouvernementales de Guangxi, la population régionale s'élevait en 2008 à 50,49 millions. Les Zhuang sont la minorité ethnique la plus importante de la région, qui représente un tiers de la population totale de Guangxi.

4. Divisions administratives :

Guangxi est divisé en quatorze préfectures, cinquante six comtés, trente quatre districts, douze comtés ethniques autonomes et sept villes au niveau de comté. Les quatorze préfectures sont Nanning (la capitale de la région), Baise, Beihai, Chongzuo, Fangchenggang, Guigang, Guilin, Hechi, Hezhou, Laibin, Liuzhou, Qinzhou, Wuzhou, Yulin.

ECONOMIE

1. Informations générales :

Récemment, la dynamique de développement de l'économie de Guangxi a été rapide, régulière et équilibrée. En 2008, le PIB de Guangxi s'élevait à environ 717,2 milliards de yuan (103 milliards dollars US) et il a été classé dix septième en Chine. Son PIB par habitant est de 14 966 yuan (2 155 US \$).

2. Agriculture :

Les principales cultures agricoles comprennent le riz, le maïs, le blé, les patates douces, les cacahuètes, le tabac, le thé, le coton, les fruits, le mûrier, la canne à sucre et le manioc.

3. Industrie :

Les principales industries sont l'alimentation, la métallurgie, les moteurs, le pétrole, l'équipement, l'électricité, la soie, le sucre et les produits pharmaceutiques.

PRODUCTION SERICICOLE

1. Informations générales :

Depuis l'an 2000, la production séricicole à Guangxi est passée à la vitesse supérieure, année pendant laquelle 29 500 tonnes de cocons mûrier ont été produites et elle a été classée 6^{ème} en Chine. En 2005, au bout de seulement cinq ans, Guangxi a produit 148 000 tonnes de cocons mûrier, est devenu le numéro 1 en Chine et a ensuite gagné le championnat national de production pendant cinq années consécutives. En 2007, Guangxi a établi son record le plus élevé dans l'histoire, concernant les surfaces de muraies cultivées et la production de cocons de vers à soie, qui ont représenté respectivement 2,02 millions de mu (1 hectare = 15 mu) et 205 000 tonnes (fig. 1) et sa production de cocons de ver à soie mûrier a dépassé la production nationale de l'Inde, le no. 2 mondial (fig. 2). A présent, la production de cocons de vers à soie mûrier à Guangxi représente 27 % de la production nationale.

2. Distribution de la sériciculture :

En 2008, la production séricicole dans l'ensemble de la région autonome a englobé 83 comtés dépendant de 13 villes préfectorales, soit plus de 886 300 foyers agricoles, qui sont impliqués dans 6 832 villages.

Le gouvernement est fortement encouragé à centraliser les muraies dans les régions adjacentes, à uniformiser la gestion, à mettre en place des méthodes telles que l'élevage coopératif des jeunes vers à soie, l'élevage sous de grands hangars, pour changer le mode traditionnel d'élevage du ver à soie par foyer et pour continuellement améliorer, standardiser, rationaliser, regrouper les plantations de mûrier et l'élevage du ver à soie. Après un travail de longue haleine, des regroupements de la production séricicole ont d'abord été entrepris dans les cinq villes préfectorales, c'est-à-dire à Hechi, Nanning, Laibin, Liuzhou et Guigang. En 2008, les surfaces de muraies de ces cinq villes ont totalisé 1 200 000 hectares, représentant 86,17 % de toute la région autonome, la production de cocons s'est élevé à 157 000 tonnes, représentant 91,87 % de l'ensemble de la région autonome (Fig. 3).

3. Promotion du développement rural par la sériciculture :

En 2008, le revenu des sériculteurs tiré de la vente de cocons a représenté 2 765 milliards de CNY (1 Euro = 8,5577 CNY), 136 800 foyers impliqués dans l'élevage du ver à soie ont gagné un revenu de plus 10 000 CNY et 3 192 foyers ont gagné un revenu de plus de 50 000 CNY.

En 2007, 85 000 fermiers séricicoles dans la ville de Hechi du comté de Yizhou ont gagné un revenu global à partir des cocons frais de plus de 7 600 millions de CNY ; dans tout le comté le revenu moyen par fermier à partir seulement de ce revenu, a représenté plus de 1 520 CNY, soit 41,3 % du revenu net moyen par fermier cette année là. Dans le village de Banwei du comté de Yizhou, tous les foyers agricoles sont impliqués dans la sériciculture. En 2007, l'ensemble du village a produit 8 716 boîtes de vers à soie, 550,7 tonnes de cocons de vers à soie, l'ensemble du revenu séricicole a représenté plus de 1 046 300 CNY, le revenu moyen d'un foyer tiré de l'élevage des vers à soie a représenté 24 200 CNY et le revenu moyen par habitant s'est élevé à 6 041 CNY.

En 2007, la ville de Laibin du comté de Xiangzhou a élevé 625 500 boîtes de vers à soie produit un ensemble de 23 460 tonnes de cocons de vers à soie frais, créé une valeur totale de 38 900 millions de CNY, le revenu moyen des foyers impliqués dans l'élevage du ver à soie dans tout le comté s'est élevé à 6 208,4 CNY, parmi lesquels 25 687 foyers ont gagné un revenu de plus de 10 000 CNY, 1 123 foyers ont gagné un revenu de plus de 50 000 CNY et 35 foyers ont gagné un revenu de plus de 100 000 CNY.

En raison des augmentations des revenus des éleveurs de vers à soie, Guangxi s'est développé sur les plans rural, social et économique et l'environnement résidentiel, les conditions de production et le niveau de vie se sont avant tout améliorés et élevés, il y existe des routes cimentées qui conduisent à chaque village, chaque famille vit dans un bâtiment, chaque foyer a des économies, les villageois sont civilisés, les administrations sont démocratiques, ce qui représente de bons exemples pour de nombreuses zones d'élevage du ver à soie, pour développer de nouvelles zones rurales socialistes (fig. 5).

4. Industrie de la soie :

Avec le développement rapide de la sériciculture, les capacités de dévidage de la soie de Guangxi ont rapidement augmenté, parce que de nombreuses entreprises produisant de la soie, telles que la China National Silk Imp. & Exp. Corporation, Guangdong Silk-Tex (Group) Co. Ltd., Jiangsu SOHO Intl. Group Corp, Jiangsu Huajia Silk Group Corporation, Zhejiang New Silk Road Group Corporation, Zhejiang Huashen Silk Imp. & Exp. Co., Ltd., sont attirées par les avantages de Guangxi en ressources naturelles et en main d'oeuvre, comme investisseurs uniques ou en joint venture industrielles de production de soie dans la région autonome (fig 6).

En 2003, dans l'ensemble de la région autonome les machines de dévidage de la soie ont totalisé 83 000 bouts, parmi lesquelles les machines automatiques de dévidage de la soie représentaient un ratio de 79 %, la production annuelle de soie grège a atteint 2 164 tonnes. En 2008, dans l'ensemble de la région autonome les machines de dévidage comprenaient 223 600 bouts, dont 100 % étaient automatiques, la production annuelle de soie grège a atteint 14 952 tonnes, soit une augmentation de 691 % par rapport à 2003 (Fig. 7)

Entre-temps, les industries de dévidage de Guangxi ont consommé seulement 18,39 mille tonnes de cocons mûriers, soit 25 % de sa production totale en cocons et le reste des cocons sont transportés et dévidés en dehors de Guangxi. Cependant, avec le développement de l'industrie de la soie, maintenant 74 % des cocons de vers à soie peuvent être consommés à Guangxi (Fig. 8).

PERSPECTIVES

D'après la description ci-dessus, Guangxi possède de nombreux avantages pour le développement de son industrie séricicole.

En premier lieu, les conditions climatiques à Guangxi sont propices à la croissance et au développement des mûriers. La période adaptée à l'élevage du ver à soie sur une année, dure jusqu'à 8 mois, pendant lesquels 8 à 11 lots de vers à soie peuvent être élevés ; la saison de production séricicole pouvant commencer dès avril et finir en novembre.

En deuxième lieu, les fermiers à Guangxi sont devenus très friands de la plantation de mûriers et de l'élevage de vers à soie et leurs retombées économiques sont plus élevées que dans les autres régions d'élevage du ver à soie. Comme le montrent les statistiques, en 2006, la production moyenne annuelle de cocons de vers à soie à Guangxi s'est élevée à 1542 kg / hectare, soit beaucoup plus que la moyenne nationale de 887,9 kg / hectare ; dans les principales zones de production telles que Yizhou, Xiangzhou, Liucheng, Hengxian, etc la production de nombreux foyers impliqués dans l'élevage du ver à soie s'est élevée à 2 250 – 3000 kg de cocons de vers à soie par hectare.

En 3^{ème} lieu, avec les progrès de l'industrialisation et de l'urbanisation dans les provinces de l'est telles que Zhejiang, Jiangsu, Guangdong, Shandong etc., le coût des terres et de la main d'œuvre a continuellement augmenté et dans l'est, les productions traditionnelles de cocons et de soie ont baissé d'année en année. Le « phénomène japonais » a commencé à apparaître progressivement dans l'industrie séricicole des régions avancées de l'est de la Chine.

Cependant, le développement social et économique est relativement arriéré à Guangxi, où les ressources en terres et en main d'œuvre sont comparativement riches, et où les conditions naturelles et les conditions sociales sont propices au développement de l'industrie séricicole. Selon les rapports gouvernementaux réalisés par les différentes provinces, en 2008, le PIB de la province de Jiangsu a dépassé 3 000 milliards de CNY, le revenu moyen par citoyen a représenté 7 357 CNY ; dans la province de Zhejiang, le PIB a dépassé 2 100 milliards de CNY, le revenu moyen par habitant chez les citoyens a représenté 22 727 CNY, le revenu moyen net par habitant des résidents ruraux s'est élevé à 9 258 CNY, tandis que dans la région de Guangxi, le PIB de toute la région s'est élevé à 715 milliards de CNY, le revenu moyen de dépenses par citoyen s'est élevé à 14 000 CNY et le revenu moyen net par habitant chez les fermiers s'est élevé à 3 700 CNY.

On peut donc en déduire que Jiangsu, Zhejiang et Guangdong abandonneront progressivement la production de cocons et de soie grège, mais conserveront leur production avantageuse et industrielle, tandis que Guangxi est comparativement bien placée pour la production de cocons et de soie grège. A l'avenir, Guangxi deviendra un fournisseur important de cocons et de soie grège non seulement en Chine, mais aussi dans le monde entier.

A REVIEW ON THE LARVAL RESISTIVITY AND DISINFECTION OF THE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS OF MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. IN INDIA

S. MANIMEGALAI

Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore-641 003,
Tamil Nadu, India.

Mulberry silkworm, Bombyx mori L. most valued for silk and other medicinal products is prone to various biotic and abiotic stresses leading to drastic loss in silk yield. 30 – 40 per cent loss in cocoon yield is noticed due to various diseases (Chandrasekharan et al., 2006). Among the viral diseases, the nuclear polyhedrosis caused by nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) is the most serious due to its prevalence throughout the year. Though most of the disease causing pathogens occur in the environment, disease occurrence is an interaction of the host, pathogen and environment. Hence, the loss to the disease, etiological agents responsible for disease manifestation and the management strategies are discussed.

Keywords: *Bombyx mori*, nuclear polyhedrosis virus, incidence and loss, predisposing factors, management strategies.

Sericulture is one of the promising rural industries in India, playing an important role in rural development because of its unique characteristics of being labour intensive, having short gestation period and capacity of developing into a family level enterprise requiring limited skill. Among the various limiting factors for cocoon production, the occurrence of diseases caused by viral, bacterial and fungal pathogens is considered to be the most important factor.

Among the viral diseases of the silkworm, *Bombyx mori* L., grasserie caused by nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) results in considerable crop loss to Sericulturists. BmNPV is polyorganotropic causing systemic infection multiplying in major tissues and organs. The most common route of infection by BmNPV is *per os*. The diseased worms act as the major source of infection. This virus is a member of the family, Baculoviridae, sub family, Eubaculovirinae (Francki *et al.*, 1991). It is characterized by rod shaped enveloped virions containing a genome of circular double stranded DNA (Maeda and Majima, 1990).

Grasserie, the most common name for the disease comes from the French referring to the milky fluid condition of the haemolymph of the diseased worms (Chitra *et al.*, 1975). It is popularly known as milky disease, jaundice, hanging disease and fatty degeneration disease.

INCIDENCE AND LOSS DUE TO GRASSERIE DISEASE

In India, the crop loss due to grasserie disease of silkworm is 30-34 per cent (Vaidhya, 1960). Of the total loss of cocoon crop, 71 per cent was due to flacherie and polyhedral disease of silkworm (Sidhu and Singh, 1968). Chitra *et al.* (1975) recorded 20 - 40 per cent crop loss due to viral diseases in Karnataka. Six per cent loss due to grasserie was reported by Samson (1985). 40 – 60 per cent loss due to grasserie was reported in Bangladesh (Barman and Pasha, 1986) and 15 – 20 per cent loss was reported in Karnataka (Baig and Pradip kumar, 1987).

As per the survey conducted in different sericultural states of India, incidence of grasserie was 25 – 32 per cent in Jammu and Kashmir (Chisti and Sohaf, 1990). Another survey on the incidence of nuclear polyhedrosis virus disease of silkworm showed that grasserie accounted for 33-35 per cent of the total incidence of diseases (Ginjamang Simte, 1990). Subba Rao *et al.* (1990) found that the grasserie incidence in West Bengal ranged from 0.16 to 6.25 per cent. Samson *et al.* (1990) have reported 32.8 per cent loss from the southern parts of Karnataka. According to survey figures from some countries and areas, viral diseases account for 70-80 per cent of the total loss of silkworms from diseases (Anonymous, 1991). Savanurmah *et al.* (1994) have recorded 53.5 per cent loss exclusively from northern parts of Karnataka. In Tamil Nadu, among the four different districts surveyed for grasserie disease, the incidence was maximum (25%) at Dharmapuri followed by Erode (15.5%), Coimbatore (11.8%) and Salem (9.13%) during summer months (Sivaprakasam, 1994).

It is reported that farmers are getting only 3-4 successful crops out of the 5-6 crops per year on an average which is mainly due to the incidence of the viral diseases (Savanurmah *et al.*, 1994). Nataraju (1995) reported the prevalence of grasserie to the tune of 33 – 50 per cent. Sivaprakasam and Rabindra (1995) reported that among the diseases, grasserie is a serious one caused by nuclear polyhedrosis virus (NPV) which accounted for more than 15 per cent loss in cocoon yield in tropical conditions.

According to Nataraju *et al.* (1999), the precocoon stage mortality ranged from 0.10 to 4.00 per cent due to nuclear polyhedrosis virus and flacherie.

Samson (2000) reported that the most common disease encountered in the tropics was grasserie and the incidence ranged from 32.9-55.3 per cent. Shankar Rao (2000) observed that, out of overall loss of 21-33 per cent per crop, 4.21 per cent was due to grasserie.

Chandrasekaran *et al.* (2006) reported that nuclear polyhedrosis virus is the major disease which accounts for 30 – 40 per cent average crop loss in silkworm rearing. Apart from causing larval mortality, grasserie disease was also responsible for nearly 50 per cent of the total post cocoon mortality.

PREDISPOSING FACTORS

Silkworm breeds:

Prevention of diseases and breeding of silkworm varieties with high degree of resistance are the important aspects in commercial Sericulture.

Difference in susceptibility of different Japanese and Chinese breeds and hybrids have been reported by several authors (Watanabe, 1966; Liu Shi Xian, 1984).

It is also reported that bivoltine silkworm breeds are more susceptible to grasserie as compared to polyvoltine breeds (Liu Shi Xian, 1984; Sivaprakasam and Rabindra, 1995).

The use of disease tolerant silkworm varieties serves as a better option for disease management. Increased tolerance of Indian multivoltine races to NPV has also been documented in Japan. (Funakoshi and Aizawa, 1989; Watanabe *et al.*, 1994).

Bivoltine silkworm breeds, NB7, NB18, NB4D2 exhibit highest disease occurrence and multivoltine breeds, PCN, Pure Mysore, C.Nichi and MY1 exhibit minimum incidence. (Singh *et al.*, 1990).

Ginjamang Simte (1990) reported that multivoltine × multivoltine hybrids were less susceptible compared to multivoltine × bivoltine or bivoltine × bivoltine combination. Comparative evaluation of several races of *B. mori* to BmNPV has been carried out by Baig *et al.*, (1991) who reported that hybrids of even susceptible parents have better tolerance to BmNPV.

According to Datta (1994), majority of the bivoltine races available in India are of exotic origin from Japan, China and France. Li *et al.* (1994) studied that the Japanese varieties have greater resistance to NPV.

Nataraju (1995) opined that among the multivoltine × bivoltine hybrids, PM × NB4D2 was comparatively less susceptible to BmNPV infection. Sivaprakasam and Rabindra (1995) reported that C. Nichi, Pure Mysore and Tamil Nadu white were significantly less susceptible compared to pure bivoltines and hybrids.

According to Ratna Sen *et al.* (1997), Indian silkworm races differ in their susceptibility. Among the silkworm races, bivoltines are more susceptible compared to multivoltine ones. They studied the susceptibility status of the silkworm germplasm stocks in India to BmNPV and reported that among 72 parental material, the mortality ranged from 0 to 87 per cent on challenging with BmNPV at a concentration of 1×10^5 PIB / ml.

Bivoltine silkworms were comparatively more susceptible than multivoltine hybrids and multivoltine pure breeds (Nataraju *et al.*, 1998).

Venkatesh (2000) reported that the hybrid, KSO 1 × SP 2 showed better tolerance to BmNPV.

Nataraju *et al.* (2001) opined that in India, studies on susceptibility of different silkworm races to BmNPV have shown that susceptibility varies with races. BmNPV polyhedra at a dosage 1×10^5 PIB / ml in multivoltines is reported to cause a mortality of 7.28 per cent in Nistari and 8.67 per cent in Pure Mysore and in bivoltine worms, mortality of 34 per cent in CSR2 and 41.34 per cent in CSR5 was encountered (Kawakami, 2001).

Multivoltine breed, BMI 027 was identified for grasserie and flacherie tolerance by Nagaraju (2002) at RSRS, Jorhat.

Jaiswal *et al.* (2003) reported that the bivoltine hybrid, CSR2 × CSR5 was more susceptible compared to cross breed, BL23 × NB4D2 after carrying out a detailed study during different seasons. Sivaprasad *et al.* (2003) reported that among 145 silkworm breeds screened from germplasm maintained in the Andhra Pradesh State, 18 bivoltines and 16 polyvoltines were found to have real tolerance to BmNPV. They also reported that the commercial silkworm breeds, Swamandhra (APM 1 × APS 8) and Kalpatharuvu (APS 9 × APS 8) are tolerant to BmNPV.

According to Ramesh kumar (2004), cross breeds, P2D1 × NB4D2, BL24 × NB4D2 and PM × APS 8 were found to be highly susceptible and the breeds, APM 1 × APS 8, PM × CSR2 and PM × NB4D2 were found to be less susceptible to BmNPV.

Anonymous (2005) reported that two NPV tolerant hybrids, 2N × 5N and 2N × 61N were found to be superior with higher survival and better cocoon parameters.

Koundinya *et al.*, (2009) opined that multivoltine breeds are mostly indigenous in origin and show resistance to adverse climatic conditions and tolerance to diseases. Sivaprasad *et al.* (2009) reported that eighty eight silkworm germplasm consisting of 48 bivoltine and 40 polyvoltine stocks were maintained at APSSRI & DI, Hindupur for disease resistance or tolerance and few of the stocks have resistance or tolerance to two or three viruses.

The Effective Rate of Rearing was significantly maximum in both PM × CSR2 (62.50%) and MH1 × CSR2 (61.11%) on administration of BmNPV (Hadimani *et al.*, 2008)

Temperature and humidity/ Season:

Fluctuations in temperature and humidity (Steinhaus, 1949) were identified as the predisposing factors for nuclear polyhedrosis. It has also been observed that the incidence of BmNPV was higher due to sudden changes in room temperature from higher to lower temperature than in gradual changes (Ishimori, 1951; Suzuki and Hayashita, 1955).

Temperature and humidity have a direct influence on incidence of viral diseases (Aratake and Kayamura, 1973) and these factors are co-axial in their occurrence. High temperature and high humidity were reported to cause grasserie in silkworm (Samson *et al.*, 1980).

According to Matsubara *et al.* (1984), silkworms became markedly more susceptible to polyhedra at low and high temperature. Barman *et al.* (1988) reported that temperature over 28°C and humidity

over 80 per cent, as well as wide fluctuations in temperature and humidity are the major inducing factors of NPV disease of silkworm.

At Andhra Pradesh, the grasserie disease was most serious during rainy season (July-October) and the incidence ranged from 17-20 per cent (Swamy and Nagaraj, 1992). Pathak (1993) observed 60 per cent incidence during rainy season followed by winter (50 %) and summer (40 %). Higher incidence of 24.68 – 53.51 per cent was recorded throughout the year in Karnataka by Baig *et al.*, (1993).

Prabhakar Rao *et al.* (1997) reported that the viral disease incidence was more when there is lower temperature and high humidity especially during October, November months. Silkworm requires an ideal temperature of 24 - 28°C and 70 - 90 per cent RH for its growth and development (Saratchandra, 1997).

Nataraju *et al.* (1998) reported that the nuclear polyhedrosis of silkworm prevailed in different seasons in sericultural areas of Karnataka, India. Prevalence of grasserie averaged 43.63 per cent out of all diseases. The disease prevalence was very high in summer (55.35%) followed by winter (41.66%) and rainy seasons (32.97%). Dandin *et al.* (2000) reported 100 per cent polyhedrosis at 100 per cent RH.

Leaf quality:

Mulberry silkworm is prone to virus infection by feeding with differential maturity leaves differing in quality (Krishnaswami *et al.*, 1970). Krishnaswami *et al.* (1973) opined that feeding of unsuitable leaves was the major causative factor for grasserie and flacherie.

Prolonged storage of leaves leads to the loss of leaf quality (Benjamin and Nagaraj, 1987) and affect the moisture content of leaves (Sarkar *et al.*, 1992), thereby affecting the palatability of silkworms leading to malnutrition and making them prone to viral diseases. Leaves with low protein, low sucrose and high cellulose are known to predispose the larva to nuclear polyhedrosis (Nataraju *et al.*, 1994).

Feeding of coarse leaf, tender leaf, moistened leaf, soiled leaf and leaf raised with only nitrogen fertilizers especially urea aggravate the disease (Govindan *et al.*, 1998). Venkatesh (2000) reported that the mixing of different quality (aged) leaves may provide the improper composition, perhaps affect the development of resistance in silkworms. Shantha kumar *et al.* (2000) reported that larval weight as well as incidence of nuclear polyhedrosis virus was influenced when mulberry leaf of different maturity levels was fed to silkworms. According to Venkatesh and Patil (2001), susceptibility to viral diseases is directly proportional to the rate of deterioration of mulberry leaf quality associated with prolonged leaf preservation. They also reported that farmers loose considerable amount of cocoon crop due to bacterial and viral diseases mainly due to poor mulberry leaf quality coupled with inadequate disinfection and hygiene.

Nataraju *et al.* (2002) reported that silkworms fed on inferior quality mulberry leaf especially under adverse climatic conditions of summer make them highly susceptible to diseases. Shanthakumar *et al.* (2006) reported that the single cocoon weight and shell percentage were observed to be lower when larvae were fed with soiled leaves.

Rearing environment:

Stress produced by overcrowding has been reported to increase the susceptibility of insects to diseases (Steinhaus, 1949). Over crowding and starvation as predisposing factors for grasserie in silkworm were reported by Samson *et al.* (1980).

Samson *et al.* (1981) reported that prolonged larval starvation increase the cocoon crop loss due to grasserie. Prolonged larval starvation as an important predisposing factor for grasserie was reported by many authors. (Attathom and Sinchaisri, 1987; Satish and Govindan, 1987).

Balavenkatasubbaiah *et al.* (1989) reported that the rearing room, tray, stand and seat paper played major role as a source of contamination.

Samson (1992) reported that, apart from high temperature and high humidity in the rearing house and fluctuations in the diurnal temperature and humidity, poor hygienic conditions such as excessive moisture in the rearing bed, lack of separate rearing house and poor ventilation were the predisposing factors for grasserie. The population density of larvae reared has a direct effect on the incidence of grasserie (Samson, 1992; Patil *et al.*, 1993).

Significant increase in the incidence of grasserie was observed in the rearing trays as the larval density increased (Sivaprakasam *et al.*, 1997). Prabhakar Rao *et al.* (1997) reported that due to wider environmental fluctuations, bacterial and viral diseases are noticed in the area of Gulbarga in northern states.

Irregular bed cleaning and bed cleaning through hand enhance the disease incidence (Govindan *et al.*, 1998). The continuous rearing coupled with poor hygiene were reported as factors responsible for disease occurrence (Samson, 1999).

Disinfection practices:

Disinfection and maintenance of hygiene during rearing are the essential factors for prevention of silkworm diseases. The purpose of a disinfectant is to kill and inactivate the microorganisms or at least to reduce them to a significant number.

Golanski (1961) reported that formalin acts by penetrating into the inclusion bodies to denature viral DNA thereby making occluded virions less virulent to silkworm larvae.

Papzol, a chemical in powder form reduced grasserie infection by 47.42 to 100 per cent when applied on rearing bed once in each instar (Noamani and Mukherjee, 1975).

Miyajima (1977) studied the role of sunlight as a protective measure against viral diseases and observed that viruses became inactivated within 2 h of exposure of contaminated seat paper to sunlight on a concrete surface.

Samson (1987) reported that grasserie incidence was reduced from 10.3 to 3.39 per cent and cocoon yield increased from 34.08 to 42.06 kg by use of RKO, a bed disinfectant. Similar results were made by Radha *et al.*, (1989) and Sasidharan and Nageshwara Rao (1990).

Balavenkatasubbaiah *et al.* (1989) reported the inactivation of grasserie virus when the rearing appliances were exposed to 6 h. of bright sunlight.

Barman (1991) reported a mixture of lime, paraformaldehyde and sodium benzoate (94:3:3) or lime, paraformaldehyde and benzoic acid (95:3:2) as an effective bed disinfectant against grasserie. Subba Rao *et al.* (1992) reported the effectiveness of a mixture of lime and bleaching powder (97:3) against grasserie. Use of chemicals, *viz.*, bleaching powder (5%) with slaked lime (0.3%) (Subba Rao *et al.*, 1992), formalin (2%), steridol and aldepol (Sharma *et al.*, 1994) can inactivate virus.

The bleaching powder at 4.5 per cent concentration was effective against all the pathogens including NPV (Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1994). Sharma *et al.* (1994) reported that formalin was the effective disinfectant followed by bleaching powder, Asiphor, steridol and Aldepol. Cross contamination by pathogens is avoided by means of surface disinfection with bed disinfectants, *viz.*, lime, Resham Jyothi, Sanjeevini and Vijetha (Patil, 1995).

Balavenkatasubbaiah *et al.* (1996) reported chlorine dioxide as a strong oxidising agent twice stronger than sodium hypochlorite and 2.5 times than chlorine.

The effectiveness of Vijetha (3 kgs/100 DFLs) in reducing the grasserie by 62 per cent and increased cocoon yield of 47.16 kgs/100 dfls compared to 36.40 kgs in control was reported by Datta *et al.* (1998).

Mixture of formalin and bleaching powder (1:1) was found to be highly effective against NPV. Dissolution of polyhedra takes place under alkaline conditions and thereby loss of infectivity of virus was observed (Patil and Ramegowda, 1999).

Sanjeevini to be effective against both grasserie and flacherie disease at Kolar and Bangalore was reported by Patil and Sharadamma (1999). Singh *et al.* (1999) reported that the alternate day application of RKO and formalin chaff in sequence was more effective in prevention of nuclear polyhedrosis virus in normal condition besides improving the larval and cocoon characters. A mixture of formalin and bleaching powder (1:1) was found to be highly effective against BmNPV (Patil and Ramegowda, 1999).

Application of turmeric powder + chalk powder (1:5) @1kg/100 dfls thrice, once during third, fourth and fifth instars immediately after moulting resulted in reduction of grasserie by 63.16 per cent in summer and 62.45 per cent in winter respectively besides enhancing the larval and cocoon characters (Manimegalai *et al.*, 2000). Application of a botanical bed disinfectant formulation significantly reduced the contamination and spread of all the four diseases *viz.*, pebrine, nuclear polyhedrosis, muscardine and bacterial flacherie (Sasidharan *et al.*, 2000).

A spray of 0.3 per cent slaked lime solution in addition to usual disinfection procedure is recommended prior to rearing whenever high incidence of grasserie was experienced in the preceding crop (Kawakami, 2001). Shanthakumar *et al.* (2001) reported that the bed disinfectants, Resham Jyothi, Latex and Sanjeevini recorded significantly higher cocoon weight, shell weight, shell percentage, cocoon filament length and lower number of cocoons per kg, defective cocoons and renditta.

Venkataramana *et al.* (2001) reported that the combinations of paraformaldehyde, formaldehyde, benzoic acid and lime resulted in lowest incidence of grasserie. Nataraju *et al.* (2001) reported the effectiveness of 500 ppm chlorine dioxide against all the silkworm pathogens when added along with 0.5 per cent slaked lime. Irfan Illahi *et al.* (2003) reported the efficacy of various bed disinfectants used in India and found Vijetha better than other chemicals against grasserie disease. The broad spectrum activity of Sakthi Seri Dust against silkworm pathogens was demonstrated by Manimegalai and Chandramohan (2006 a).

CURATIVE DISEASE MANAGEMENT APPROACH

Chemical agents:

Administration of antibiotics serves as a curative measure for disease management. Ueda *et al.* (1955) reported that Grasseriomyacin isolated from a species of *Streptomyces* was effective against jaundice in silkworm as a therapeutic measure. Gershenson (1958) suggested the use of cobalt and zinc salts along with the food of silkworm to decrease the frequency of spontaneous jaundice (NPV) caused by the latent virus. Ovanesyan (1958) found that 9-aminoacridine lactate and hydroxyquinoline sulfate had a therapeutic effect on jaundiced silkworms. The use of cobalt nitrate and cobalt sulphate at 0.05 per cent concentration along with food of silkworm reduced the frequency of occurrence of NPV (Gershenson, 1958). Reijiro (1972) reported that leucomycin and fructosazine reduced the incidence of CPV and NPV.

Radha and Muthukrishnan (1980) reported that foliar supplementation with antibiotics tetracycline, penicillin and streptomycin effectively reduced the grasserie incidence. Gentamycin 0.1 percent gave the maximum ERR of 92.26 per cent and reduced the incidence of grasserie and flacherie. Baburashvilli *et al.* (1984) found that 0.1 per cent immanine reduced the frequency of polyhedrosis by 100 percentage within three hours of normal feeding. Liu and Hou (1985) reported that when the silkworm larvae were fed with leaves after soaking with ecdysteroid, Mayuran at the rate of 0.4 mg/ml, NPV infection was effectively contained. Tetracycline, penicillin, erythromycin and streptomycin effectively controlled grasserie occurrence in CBV race whereas in KP race, streptomycin and enterocycline were more effective (Radha *et al.*, 1989).

Baig *et al.* (1990) reported that the application of 0.1 per cent gentamycin resulted in maximum ERR of 92.25 per cent and reduced the grasserie incidence. When ecdysterone was injected at 0.4 µg

per larvae either before (or) after inoculating the NPV, the NPV mortality was reduced (Hou and Yang, 1990.)

Vaccine against the nuclear polyhedrosis has been developed and the multiple vaccinations has given promising results at laboratory level (Rabindra, 1994).

Sivaprakasam and Rabindra (1996) studied the effect of mulberry leaves treated with calcium hydroxide on the NPV inoculated silkworm and reported that 100 ppm application once during third instar reduced the grasserie incidence.

Battacharya *et al.* (1998) reported the effectiveness of rifampicin in reducing mortality of NPV infected worms followed by chloramphenicol. Chernysh *et al.* (1998) reported that consumption of ecdysterone, solanidine glycoside and araliosides increased the tolerance to NPV in fifth instar larvae.

Uma *et al.* (1999) reported the efficacy of the two antiviral agents, Ribavirin and Nalidixic acid against the silkworms inoculated with nuclear polyhedrosis virus (BmNPV).

Plant products:

Botanicals serve as an environment friendly and curative measure for grasserie management. Rabindra (1994) reported that the aqueous leaf extract from *Psoralea corylifolia* and *Tribulus terrestris* have given promising results through suppression of nuclear polyhedrosis to the extent of 61.01-72.46 per cent. Sivaprakasam (1994) reported that aqueous extract of *P. corylifolia* at 800 ppm was better than gentamycin (50 ppm) or calcium hydroxide (100 ppm) in reducing larval mortality due to grasserie. The effectiveness of *P. corylifolia* against BmNPV was demonstrated by several authors (Samuel Manohar Raj, 1994; Sivaprakasam and Rabindra, 1996; Sugun, 2001).

Manoharan (1996) reported the effectiveness of *Acacia suma* Roxb and *Caesalpinia coriaria* Jacq in reducing the mortality due to grasserie against third instar larva. Mallika (1997) reported 79.5 per cent grasserie reduction due to administration of *P. corylifolia*. She also observed that the botanicals did not show any toxic effect.

Psoracin from *P. corylifolia* was found to have an antiviral activity against BmNPV (Sugun, 1998). Murugan *et al.* (1998) reported that the extracts of *Tribulus terrestris*, *Boerhavia diffusa* and *Phyllanthus niruri* increased the consumption and growth of silkworm by enhancing the bio-availability of nutrients for digestibility and allocating more energy.

Anonymous (1998) identified a set of eight plant extracts suppressing the nuclear polyhedrosis to the extent of 80-90 per cent. Sugun (1999) have suggested to use *P. corylifolia*, a potential ecofriendly and easily available medicinal plant for controlling BmNPV as an alternative to bed disinfectants. Sivaprakasam (1999) reported that aqueous extract of botanical formulation of *C. coriaria*, *P. corylifolia* and *A. suma* significantly reduced the grasserie disease by 74.80 per cent, 73.53 per cent and 72.80 per cent respectively.

Venkataramana *et al.* (2003) reported that the oral administration of mulberry leaf supplemented with 800-1000 ppm aqueous extract of *P. corylifolia* (Seri-guard) as a feed to the silkworm during three different seasons i.e. summer, rainy and winter under tropical climate conditions was found to be effective in reducing the larval period, increasing the larval weight, survival rate and cocoon characters and also in preventing the occurrence of grasserie disease.

Raje Urs (2004) reported that administration of aqueous extract of seven botanicals showed 24-40 per cent more survival than control. Ranganatha *et al.* (2004) demonstrated the effectiveness of *P. corylifolia* and *Plectranthus amboinicus* against BmNPV through histopathology studies.

Seri-Rich is a plant based anti-viral formulation comprising of anti viral substances isolated from plants and is reported to be effective against all silkworm diseases (Anonymous, 2005). Oral administration of 10 per cent *Spirulina platensis* was found to be resistant to BmNPV (Mahesh Babu *et al.*, 2005).

Manimegalai and Chandramohan (2006b) reported that administration of 800 ppm of seed extract of *P. corylifolia* and leaf extract of *P. amboinicus* to third instar larvae of silkworm cross breed, PM

× NB4D2 resulted in reduction of 57.63 and 59.78 per cent mortality as against 61.63 per cent in standard check, *P. corylifolia* leaf extract, besides improving the economic parameters. Padma and Manimegalai (2007) reported higher survival per cent in treatments with 800 ppm of *P. amboinicus* and *P. corylifolia* (74.67 %) followed by *Tribulus terrestris* (72.00 %). The antiviral compounds, viz., 20-Deoxy-carnosol and 6 β hydroxycarnosol (diterpenoid group) from *P. amboinicus* and Bakuchicin and Bavacoumestan from *P. corylifolia* were characterized by Padma (2007) which were found to be effective against BmNPV.

Integrated disease management:

Sivaprakasam and Rabindra (1996) concluded that the disinfection of bamboo mountages followed by application of Resham Keet Oushadh (RKO) after each moult and feeding of mulberry leaves treated with aqueous extract of *P. corylifolia* @ 800 ppm once during third and fifth instar of silkworm reduced the grasserie disease besides enhancing the larval and cocoon parameters.

Administration of 0.5 per cent concentration of three antibiotics viz., Rifamicin, Chloramphenicol and Cifran along with precautionary measures serve as an effective integrated approach for management of BmNPV (Bhattacharya *et al.*, 1998).

An integrated approach consisting of disinfection of rearing house and maintenance of hygiene, dusting of Vijetha and feeding of phytoformulations (once during second feed of 3, 4 and final instar) was found effective in suppression of grasserie with no adverse effect on silkworm larval health and cocoon parameters (Nataraju *et al.*, 2005).

Muruges and Manimegalai (2008) have suggested an integrated management approach for tackling the problem of grasserie disease in silkworm.

Field trials on grasserie management at three different locations in Tamil Nadu revealed that use of TNAU Seri dust and plant product at 800 ppm resulted in lower larval mortality of 22.17 per cent and increased yield by 17.19 per cent (Mahalingam and Muruges, 2008).

Early detection of pathogen:

For the disease management, we can also go for early detection of pathogens using the immunodiagnostic methods such as latex agglutination tests and enzyme based dipstick immunoassay. BmNPV contamination in the rearing room can be also be studied by oral administration of polyoxin AL, a chitin inhibitor (Iyengar, 2006).

The role of enzymes viz., proteases and lipases moulting hormone, β ecdysone and red fluorescent protein in defense mechanism against BmNPV have been reported by many authors.

Hence, in addition to the above mentioned management strategies we can also think of the possibilities of adding precursors (or) substances to the diet of silkworm to trigger the production of enzymes, hormones and red fluorescent protein, since breeding of disease resistant breed is a challenging task as the disease is controlled by polygenes.

REFERENCES

- ANONYMOUS. (1991) Silkworm diseases. Agricultural services bulletin 73/4. Food and Agricultural organization of the United Nations, Rome, pp. 102 - 121.
- ANONYMOUS. (1998) Research extension centre's: silkworm rearing. Annual Report, CSR & TI, Pampore, pp. 44 - 51.
- ANONYMOUS. (2005) Testing of new NPV tolerant productive bivoltine hybrids. Annual Report, CSR & TI, Mysore, p.148.
- ARATAKE Y., KAYAMURA T. (1973) Pathogenicity of NPV of the silkworm, *Bombyx mori* for a number of lepidopteran insects. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool., 17: 121 - 126.

- BABURASHVILLI E. I., NONIKASHVILLI L. V., AMIRANASHVILLI M. K., SIKHARULIDZE K. L. (1984) Results on the action of immanine on polyhedrosis of the silkworm, Tbilisi USSR, Gruzinskil Selko Khozyaist Venny Institute.
- BAIG M., PRADIPKUMAR T. (1987) Silkworm diseases and pests. In: Appropriate Sericulture Techniques, M.S. Jolly (Ed.), CSR and TI, Mysore, India, pp. 107 - 144
- BAIG M., NATARAJU B., SAMSON M. V. (1990) Studies on the effect of antibiotics on the rearing performance and loss due to diseases in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 29 (1): 54 - 58.
- BAIG M., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SAMSON M. V., SASIDHARAN T. O., NOAMANI M. K. R. (1991) Relative susceptibility of different races of silkworm, *Bombyx mori* L. to nuclear polyhedrosis under natural and induced conditions. Sericologia, 31(3): 417 - 420.
- BAIG M., BALAVENKATASUBBAIAH M., NATARAJU B., SELVAKUMAR T. (1993) Incidence of silkworm diseases in sericultural areas of Karnataka. Annual Report, CSR& TI, Mysore, pp. 92 - 93.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S. D., BAIG M., SINGH B. D., VENKATA REDDY S., NOAMANI M. K. R. (1989) Role of disinfection of rearing appliances and sunlight exposure on the inactivation of disease causing pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 28 (2): 200 - 206.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., DATTA R. K., BAIG M., NATARAJU B., IYENGAR M. N. S. (1994). Efficacy of bleaching powder as a disinfectant against the pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 33(1): 23 - 26.
- BALAVENKATASUBBAIAH M., NATARAJU B., DATTA R. K. (1996) Chlorine di oxide and Virkon-S as disinfectants against pathogens of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 35 (1): 50 - 53.
- BARMAN A. C., PASHA K. (1986) Silkworm disease in Bangladesh and their control, Proceedings of National Sericulture Workshop, Bangalore, India, 25 p.
- BARMAN A. C., PASHA K., AHMED S. U. (1988) Screening for resistance to *per os* infection with nuclear polyhedrosis virus in different multivoltine races of silkworm, *Bombyx mori* L. in Bangladesh. J. Zool., 16: 85 - 92.
- BARMAN A. C. (1991) Effect of some formulated chemical compositions for controlling bacterial and viral diseases of silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Seric. Res., 2(1): 62 - 66.
- BENCHAMIN K. V., NAGARAJ C. S. (1987) Silkworm rearing techniques. In: Appropriate Sericulture Techniques, Jolly, M.S. (Ed.), Central Silk Board, Bangalore, India, pp. 64 - 106.
- BHATTACHARYA J., KRISHNAN N., CHANDRA A. K., DAS N. K., SEN S. K. (1998) Reduction of mortality by some antibiotics in nuclear polyhedrosis of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 38 (1): 161 - 164.
- CHANDRASEKHARAN K., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBAIAH M., SHARMA S. D., SELVAKUMAR T., DANDIN S. B. (2006) Grasserie and post cocoon mortality in silkworm. Indian Silk, 45 (4): 12 - 13.
- CHAUN W. P., CHAUNG C. D. (1988) In: Silkworm rearing, FAO Service Bull., 73/2, UNO, Rome, pp. 39 - 56.
- CHERNYSH S., LUKHTHANORA V. A., SIMONEKO N. P. (1998) Pathogens and stress induced activation of latent viral infection. Entomol. Obser., 64: 267 - 272.
- CHISHTI M. Z., SOHAF K. A. (1990) Studies on the polyhedral disease of silkworm, *Bombyx mori* L. in Jammu and Kashmir State. Indian J. Seric., 29: 155 - 157.
- CHITRA C., KARANTH N. G. K., VASANTHARAJAN V. N. (1975) Diseases of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. J. Scient Ind. Res., 34: 386 - 401.
- DANDIN S. B., JAYANT JAYASWAL., GIRIDHAR K. (2000) Hand book of Sericulture technologies. Central Silk Board, Bangalore. 287 p.
- DATTA R.K.(1994) Mulberry silkworm breeding in India. In. Lecture notes on Sericulture (Ed.G.Boraiah). SBS Publishers Distributors, Bangalore.128-137p.

- DATTA R. K., BAIG M., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SELVAKUMAR T. (1998) Vijetha: An effective disinfectant. Indian silk, 36 (9): 12 - 13.
- FRANCKI R. I. B., FAUQUET C. M., KNUDSON D. L., BROWN F. (1991) Classification and nomenclature of viruses. First report of the international committee on viruses. Arch. Virol., 2: (Suppl.) 450 p.
- FUNAKOSHI M., AIZAWA K. (1989) Antiviral substances in silkworm gut juice against NPV of silkworm, *Bombyx mori* L. J. Invertebr. Pathol., 53: 135 - 136.
- *GERSHENSON S. (1958) On the control of spontaneous jaundice in silkworm. *Coecoslovenska parasitologic.*, 1: 105 - 112.
- GINJAMANG SIMTE H. (1990) Studies on nuclear polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. Dissertation. Diploma in Tropical Sericulture. CSR & TI, Mysore. 65 p.
- GOLANSKI K. (1961) The effectiveness of formalin in controlling jaundice (Nuclear Polyhedrosis) of the silkworm in Poland. J. Insect Path., 3: 11 - 14.
- HADIMANI D. K., DEVAIAH M. C., NARAYANASWAMY K. C., BHASKAR R. N., RADHA KALE D., SHREERAMULU K. R., GOVINDARAJU. (2008) Biochemical changes in silkworm larvae as influenced by BmNPV infection. International Conference on Trends in Sericulture. 27- 29 March, Krishnadevaraya University, Andhra Pradesh, India. 35 p.
- HOU R. F., YANG J. C. (1990) Suppression of NPV infection by ecdysone in silkworm, *Bombyx mori* L. Bulletin of Institute of Zool., 29 (1): 21 - 27.
- IRFAN ILLAHI S., SHARMA D., CHANDRASEKKHARAN K., NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SELVAKUMAR T., THIAGARAJAN V., DANDIN S. B. (2003). Evaluation of different bed disinfectants against the spread of common diseases in silkworm, *Bombyx mori* L. Int. J. Indust. Entomol., 6 (21): 191 - 196.
- ISHIMORI N. (1951) On the relationship between the occurrence of grasserie and the temperature limit and the route of infection in the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Seric. Sci. Jpn., 20: 51 - 52.
- IYENGAR M. N. S. (2006) Sericulture bioassay for nuclear polyhedrosis virus using silkworm, Indian silk (9): 15p.
- JAISWAL K., GANGWAR S. K., DHAMI S. S., GOEL R. (2003) Incidence of disease susceptibility in different breeds of mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) under natural conditions of Uttar Pradesh. National Conference on Tropical Sericulture for global competitiveness. 5 - 7 November, CSR & TI, Mysore, pp.101 - 102.
- KAWAKAMI K. (2001) Illustrated working process of new bivoltine silkworm rearing technology. JICA, PP B. S. T. Project. CSR&TI, Mysore, India. 11 p.
- KOUNDINYA P. R., BABU G. K. S., BALACHANDRAN N., KAMBLE C. K. (2009) Studies on exploration of genetic vigour among multivoltine genetic resources of the germplasm bank. Proceedings of National Workshop on Seri-Biodiversity Conservation, 7 - 8 March, CSGRC, Hosur, pp. 126 - 129.
- KRISHNASWAMI S., ASHAN M. M., SRIHARAN T. R. (1970) Studies on the quality of mulberry leaves and silkworm cocoon crop production. Indian J. Seric., 9: 11 - 25.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M. N., SURYANARAYANA S. K., KUMARARAJ S. (1973) Sericultural manual 2, Silkworm Rearing, FAO Agricultural Services Bulletin, Rome, 131p.
- LI W. G., ZHANG G. J., WANG H. L., ZHANG T. Y. (1994) Studies on free praline contents and resistance to NPV in different variants of Chinese silkworm. Journal of Shandong Agricultural University, 25 (3): 272 - 276.
- LIU H. S., HOU R. F. (1985) Studies on inhibition of infection with NPV by ecdysteroid containing agents in silkworm, *Bombyx mori* L. Chinese J. Entomol., 5 (1): 23-30.
- LIU SHI XIAN. (1984) Identification of resistance of silkworm, *Bombyx mori* L. races to six types of silkworm diseases. Sericologia, 24: 377 - 382.
- MAEDA S., MAJIMA K. (1990) Molecular cloning and physical mapping of the genome of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. J. Gen. Virol., 71: 1851 - 1855.

- MAHALINGAM C. A., MURUGESH K. A. (2008) Bio-prospecting of organics in mulberry cultivation for increasing leaf yield. National seminar on scenario of seribiotechnological research in India 28-30 August, Sri Padmavati Mahila Visvavidyalayam, Tirupathi, 131 p.
- MAHESH BABU S., GOPALASWAMY G., CHANDRAMOHAN N. (2005) Identification of an antiviral principle in *Spirullina platensis* against *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. (BmNPV). Indian Journal of Biotechnology, 4: 384-388.
- MALLIKA N. (1997) Biodiversity of nuclear polyhedrosis virus of *Bombyx mori* L. and management of grasserie disease. M.Sc., Thesis, Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India p 76.
- MANIMEGALAI S., SUBRAMANIAN A., CHANDRAMOHAN N. (2000) Efficacy of bed disinfectants and botanicals against grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 40 (4): 585 - 590.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2006a) Efficacy of botanicals against grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 46 (1): 15 - 23.
- MANIMEGALAI S., CHANDRAMOHAN N. (2006b) Sakthi Seri Dust- a new bed disinfectant for *Bombyx mori* L. Valarum Velanmai, 32 (6): 25 - 26.
- MANOHARAN S. (1996) Evaluation of certain botanicals for the management of grasserie of *Bombyx mori* L. M.Sc., Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India, 89 p.
- MATSUBARA F., WU Y. L., MORI H., OOGESHIRA H. (1984) Changes in the resistance to the infection with nuclear polyhedrosis virus induced by low and high temperature treatment in the germ free silkworm, *Bombyx mori* L. J. Seric. Sci. Japan, 53: 538 - 542.
- *MIYAJIMA S. (1977) Incidence of silkworm virus disease in the infected rearing seat and some protective methods. Res. Bull. Aichi. Agric. Res. Centr., 8: 47 - 52.
- MURUGAN K., JEYABALAN D., SENTHILKUMAR N., SENTHILNATHAN S., SIVAPRAKASAM N. (1998) Growth promoting effect of plant products on silkworm - A biotechnological approach. J. Sci. Indust. Research, 57: 740-745.
- MURUGESH K. A., MANIMEGALAI S. (2008) Grasserie disease of mulberry silkworm and its management strategies. Kisan world, 35 (3): 41.
- NAGARAJU J. (2002) Application of genetic principles for improving silk production, Curr. Sci., 83 (4): 409 - 414.
- NATARAJU B., DATTA R. K., SIVAPRASAD P, BAIG V., SHARMA M. (1994) Protein – A linked latex antisera (PALLAS) test for the detection of nuclear polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric , 33: 27-30.
- NATARAJU B. (1995) Studies on diagnosis and prevention of nuclear polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. Ph.D. Thesis, University of Mysore, 96 p.
- NATARAJU B., DATTA R. K., BAIG M., BALAVENKATASUBBIAH M., SAMSON M. V., SHIVAPRASAD V. (1998) Studies on the prevalence of nuclear polyhedrosis in sericultural areas of Karnataka. Indian J. Seric., 37 (2): 154 - 158.
- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., VIRENDRAKUMAR T., DATTA R. K. (1999) A study on impact of an integrated silkworm disease control technology in prevention of diseases in silkworm rearing. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture, 28 - 30 December, GKVK Campus, Bangalore. 240 p.
- NATARAJU, B; RATNA SEN; RAGHAVENDRA RAO D.(2001) Breeding for disease resistance. Paper presented at the third silkworm breeders Meet, 18-19 th October. RSRS, Dehradun. 50-57 p.
- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SELVAKUMAR T., DATTA R. K. (2001) Stabilised chlorine dioxide – an ideal disinfectant for sericulture. Indian silk, 40 (9): 11 - 14.
- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SHARMA M., SELVAKUMAR S. D., CHANDRASEKHARAN T., THIAGARAJAN V. (2002) Silkworm disease management practices during summer. Indian silk, 40 (12): 9-11.
- NATARAJU B., BALAVENKATASUBBIAH M., SHARMA S. D., SUDHAKARA RAO P., SELVAKUMAR T., CHANDRASEKHARAN K. (2005) Cost-economics of silkworm disease management. Indian silk, 8 - 10.

- NOAMANI M. K. R., MUKHERJEE P. K. (1975) Preliminary investigation on the efficacy of papzol against viral disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 14 (1): 35 - 38.
- *OVANESYAN T. T. (1958) Chemotherapy in silkworm jaundices. Doklady V Sesoyuz. Akad. Sel. Skokhoz. Wauk in VI Lenina, 23: 28 - 31.
- PADMA S., MANIMEGALAI S. (2007) Efficacy of aqueous extract of some botanicals against grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Madras Agric. J., 94 (1): 144 - 147.
- PADMA S. (2007) Bio prospecting of plant molecules for the management of grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. M.Sc. Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India, p. 105.
- PASHA M. K., BARMAN A. C., MEHERUN NESSA. (1991) Selection of superior multivoltine x bivoltine F1 hybrids against NPV disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Sericult., Res., 21: 74 - 81.
- PATHAK J. P. N. (1993) Studies on the pathological problems of silkworm, *Bombyx mori* rearing in Madhya Pradesh. In: Second Review Workshop on NSP Aided University Research Projects, CSR&TI, Mysore, Aug. 27 & 28. 26 p.
- PATIL C. S., GEETHA BAI M., SHARADAMMA P., KRISHNA M., MUNIRAJU E., MAHADEVAPPA D., DANDIN S. B. (1993) Sericultural practices and silkworm diseases in the traditional Sericultural areas of Karnataka, Indian Survey report, KSSR&DI, Thalaghattapura, Bangalore.
- PATIL C. S. (1995) Disinfection and maintenance of hygiene in sericulture. KSSR & DI. Pub., No. 14, pp. 1 - 18.
- PATIL C. S., SHARADAMMA P. (1999) Sanjeevini: An Effective Bed Disinfectant. Indian silk. 37 (12):13 - 14.
- PATIL C. S., RAMEGOWDA T. (1999) Evaluation of some chemicals against nuclear polyhedrosis virus of silkworm, *Bombyx mori* L. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture, 28 - 30 Dec, University of Agricultural Sciences, Bangalore, pp. 230 - 231.
- PRABHAKAR RAO A., RAGHURAMAN R., DANDIN S. B. (1997) Sericulture in Gulbarga: Problems and prospects. Indian silk, 19 - 18.
- RABINDRA R. J. (1994) Investigation on the polyhedral virus diseases of *Bombyx mori* and their management, Project report submitted to CSB. Department of Sericulture, Centre for plant protection studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore.
- RADHA N. V., MUTHUKRISHNAN T. S. (1980) Effect of certain chemicals on the growth and diseases control of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 157-162.
- RADHA N. V., NAGARAJAN P., JAYARAJ S. (1989) Effect of paraformaldehyde, benzoic acid with lime as bed disinfectants for prevention of diseases of silkworm, *Bombyx mori* L. Madras Agric. J., 76 (2): 85 - 89.
- RAJE URS S. (2004) Studies on the prevention and control of nuclear polyhedrosis and white muscardine diseases of silkworm, *Bombyx mori* L. using botanicals (October, 2002 – September, 2005). Annual Research and Administrative Report, pp. 59 - 60.
- RAMESH KUMAR H.V. (2004) Relative susceptibility of different races of silkworm, *Bombyx mori* L. to nuclear polyhedrosis virus. M.Sc Thesis. Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India, p. 102.
- RANGANATHA R., CHANDRAMOHAN N., MANIMEGALAI S. (2004) Evaluation of certain botanicals for management of grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. Progress of research on disease and pest management in sericulture. R. Govindan, Ramakrishna Naika and B. Sannappa (Eds). Seri Scientific publishers, Bangalore, pp. 165 - 171.
- RATNA SEN M., AJIT K., PATANAIK K., MAHESWARI M., DATTA R. K. (1997) Susceptibility status of the silkworm germplasm stock in India to *Bombyx mori* L. nuclear polyhedrosis virus. Indian J. Seric., 36: 51 - 54.
- REIJIRO K. (1972) Antibiotics on silkworm polyhedrosis, J. Seric. Sci. Jpn., 41: 7 - 14.
- SAMSON M. V. (1992) Silkworm crop protection. In: National Conference on Mulberry Sericulture Research. Dec, 10& 11, CSR & TI, Mysore, 13 p.

- SAMSON M. V., NATARAJU B., BAIG M., KRISHNASWAMI S. (1981) Starvation of *Bombyx mori* L. on cocoon crop and incidence of loss due to diseases. Indian J. Seric., 20: 42 - 47.
- SAMSON M. V. (1985) Silkworm rearing and diseases. Lead paper in National workshop on Sericulture. KSSR & DI, Bangalore.
- SAMSON M. V. (1987) Bacterial diseases of silkworm, *Bombyx mori* L. Ph.D. Thesis, University of Mysore, 137 p.
- SAMSON M. V. (1999) Advances in Research on Silkworm Diseases and Pest in Tropics. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture. 28 - 30, December, pp. 32 - 39.
- SAMSON M. V. (2000) Pest and Disease Management Needs. Indian silk, 60 - 61.
- SAMSON M. V., BAIG M., SHARMA S. D., BALAVENKATASUBBAIAH M., SASIDHARAN T. D., JOLLY M. S. (1990) Survey on the relative incidence of silkworm disease in Karnataka, India. Indian J. Seric., 29 (2): 248-254.
- SAMSON M. V., NATARAJU B., BAIG M., KRISHNASWAMI S. (1980) Proceedings of Sericulture Symposium and Seminar, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, pp. 163 - 169.
- SAMUEL MANOHAR RAJ K. (1994) Effect of certain botanicals on the nuclear polyhedrosis virus disease of *Bombyx mori* L. M.Sc. Thesis. Tamil Nadu Agricultural University Coimbatore, India, 62 p.
- SARATCHANDRA B. (1997) Management of Silkworm Diseases and Pests. Indian silk, 35 (11): 27 - 28.
- SARKAR A., QUADAR A., RAB M. A., AHMED S. U. (1992) Studies on the nutrient composition of some indigenous and exotic mulberry varieties. Bull. Seric. Res., 3: 8 - 13.
- SASIDHARAN T. O., NAGESHWARA RAO. (1990) Demonstration of Resham Keet oushadh in the field. Annual Report, CSR & TI, Mysore, p. 27.
- SASIDHARAN T. O., SINGH R. N., SANTHA P. C., VEERAJAH T. M., SAMSON M. V. (2000) Efficacy of a new botanical based silkworm bed disinfectant for the disease management in silkworm crops. National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development. 16 - 18th Nov. CSR & TI, Mysore, p. 64.
- SATISH G., GOVINDAN R. (1987) Electron Microscopy of nuclear polyhedrosis virus of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 26 :101-103.
- SAVANURMATH C. J., BASAVARAJAPPA S., HINCHIGERI S. B., INGALHALLI S. S., SINGH K. K., SANAKAL I. R. D. (1994) Relative incidence of the silkworm viral diseases in agro-climatic zones of northern Karnataka, India. Bull. Seric. Res., 5: 51 - 55.
- SHANKAR RAO. (2000) Assessment of factors influencing the productivity of commercial mulberry silkworm rearing at farmers' level - A case study in Andhra Pradesh. Bull. Ind. Acad. Seri., 4(2): 1 - 8.
- SHANTHA KUMAR K., BHASKAR R. N., GOVINDHAN R., RAVIKUMAR R. (2000) Influence of mulberry leaf maturity on rearing performance and incidence of nuclear polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. National Conference on strategies for Sericultural Research and Development, 16-18 November. CSR & TI, Mysore, pp. 64 - 65.
- SHANTHA KUMAR K., BHASKAR R. N., GOVINDHAN R., RAVIKUMAR R. (2001) Influence of mulberry leaf maturity on rearing performance and incidence of nuclear polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. National Conference on Strategies for Sericulture Research and Development, 16 - 18 November. CSR & TI, Mysore, pp. 64 - 65.
- SHANTHAKUMAR R., BHASKAR R. N., GOVINDAN R., KRISHNAPPA., RAVIKUMAR A. (2006) Influence of leaf maturity and BmNPV infection on cocoon characters of silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Ind. Acad. Seri., 10(2): 52 - 57.
- SHARMA B. J., SAMSON M. V., BALAVENKATA SUBBIAH M., DATTA R. K. (1994) Effect of different disinfectants on the prevention of nuclear polyhedrosis of the silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 30(2): 2 - 5.
- SIDHU N., SINGH K. (1968) Studies on polyhedrosis in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 7:1 - 5.

- SINGH K. K., SAVANURMATH C. J., GOKHALE S. B. (1999) Efficacy of some bed-disinfectants against nuclear polyhedrosis virus of silkworm. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture, 28 - 30 December, CSR & TI, Mysore, pp. 233 - 235.
- SIVAPRAKASAM N., JEYARANI S., RABINDRA R. J. (1997) Influence of spacing on the incidence of grasserie in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 36 (1): 72 - 73.
- SIVAPRAKASAM N., RABINDRA R. J. (1996) Integrated disease management methods for grasserie in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 35 (2): 122 - 127.
- SIVAPRAKASAM N., RABINDRA R. J. (1995) Incidence of grasserie in silkworm, *Bombyx mori* L. in selected districts of Tamil Nadu. Indian J. Seric., 34 (2): 100 - 104.
- SIVAPRAKASAM N. (1994) Seasonal incidence of nuclear polyhedrosis virus disease of silkworm, *Bombyx mori* L. and its management. Ph.D. Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. 112 p.
- SIVAPRAKASAM N. (1999) Botanical formulation for management of grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* L. National Seminar on Tropical Sericulture. 28 - 30 December. University of Agricultural Sciences, Bangalore. pp. 335 - 336.
- SIVAPRASAD V., CHANDRASEKHARAI AH C., RAMESH S., MISHRA K. P., KUMAR K., RAO Y. U. M. (2003) Screening of silkworm breeds for tolerance to *Bombyx mori* L. nuclear Polyhedrosis virus (BmNPV). International Journal of Industrial Entomology, 7(1): 87 - 91.
- SIVAPRASAD V., VIJAYA LAKSHMI L., KIRAN KUMAR K. P., JAGADEESWARA B., PRASAD K., CHANDRASHEKHARAI AH. (2009) Conservation of disease resistant/silkworm germplasm, Proceedings of National Workshop on Seri-Biodiversity Conservation, 7-8 March, CSGRC, Hosur, pp. 117 - 122.
- STIENHAUS E. A. (1949) Principles of insect pathology. McGraw Hill Book Company, Inc. New York, 417 p.
- SUBBA RAO G., CHANDRA A. K., BHATTACHARYA J. (1992) Efficacy of bleaching powder and lime against grasserie and muscardine disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 31(1): 37 - 40.
- SUBBA RAO G., CHANDRA A. K., BATTACHARYA J. (1990) Incidence and crop loss from adopted rearers level in West Bengal due to silkworm diseases. Indian J. Seric., 30(2): 167.
- SUGUN R. (1998) Studies on nuclear Polyhedrosis virus of silkworm. Annual Report, KSSR & DI, pp. 100 - 101.
- SUGUN. (1999) Status and management of thatte disease. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture, 28-30 December, University of Agricultural Sciences, Bangalore, pp. 84 - 85.
- SUGUN. (2001) Efficacy of *Psoralea corylifolia* extract for control of NPV in silkworms- Influence of leaf maturity. National Seminar on Mulberry Sericulture Research, 26-28, November, Thalaghattapura, Bangalore, India, 191 p.
- SUZUKI S., HAYASHITA T. (1955) Survival curve of virus infected in the fifth instar. J. Seric. Sci. Jpn., 24: 206.
- SWAMY M. T., NAGARAJ M. (1992) Survey of disease occurrence in mulberry silkworm rearings around Chandragiri, Chittoor in Andhra Pradesh. National Conference on Mulberry Sericulture Research. 10-11th Dec. CSR & TI, Mysore, p. 123.
- UEDA K., OKAMOTO Y., SAKAI H., ARIMA K., YONSHARA H., SAKAGAMI Y. (1955) An antibiotic against silkworm jaundice virus, grasseriomycin, produced by Streptomycin species. J. Antibiotics (Japan) Seri., 8: 91 - 95.
- UMA S., CHOUKIMATH ., SAVANURMATH C. J. (1999) Curative aspects of nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) of silkworm, *Bombyx mori* L. Proceedings of National Seminar on Tropical Sericulture, 28-30 December, University of Agricultural Sciences, Bangalore, pp. 263 - 264.
- VAIDHYA M. J. (1960) Indian Sericulture - Problems of Modernisation. Popular brochure. CSB Publication, Bombay. p. 64.
- VENKATARAMAN P., SURYANARAYANAN N., DATTA R. K. (2003) The effect of seriguard on rearing performance and loss due to diseases in silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 43(2): 191 - 197 pp.

- VENKATARAMANA P., SURYANARAYANA N., DATTA R. K. (2001) Efficacy of Iodophor on growth and productivity and occurrence of diseases in silkworm, *Bombyx mori* L. NB4D2 race. *Sericologia*, 41(3): 491 - 499.
- VENKATESH C. M., PATIL C. S. (2001) Effect of preservation methods on soluble protein and soluble sugar content of mulberry leaves, *Morus alba* L. Proceedings of National Seminar on Mulberry Sericulture Research, 26-28 November, Thalaghattapura, Bangalore, India, 814 p.
- VENKATESH C. M. (2000) Studies on the viral and bacterial diseases of silkworm in relation to leaf quality. Ph. D. Thesis, Bangalore University, Bangalore, India.
- WATANABE H. (1966) Relative virulence of polyhedrosis viruses and host resistance in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Appl. Entomol. Zool.*, 139-144.
- WATANABE H., WANG Y. & NAGATA. M. (1989) Comparative susceptibilities to a nuclear polyhedrosis virus in silkworm, *Bombyx mori* L. reared on mulberry leaves and artificial diets. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 58 : 407 - 411.
- YUSIFOV N. I., AGAVES F. A. & KUZIN A. M. (1991) Increase in the resistance of *Bombyx mori* L. to unfavourable environmental conditions under the effect of low level radiation. *Radiobiologia*, 31(2): 265 - 268.

*Originals not seen.

REVUE SUR LA RESISTIVITE LARVAIRE ET SUR LA DESINFECTION DU VIRUS DE LA POYEDROSE NUCLEAIRE DU VER A SOIE MURIER, *BOMBYX MORI* L. EN INDE

S. MANIMEGALAI

Department of Sericulture, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003,
Tamil Nadu, Inde.

*Le ver à soie mûrier, **Bombyx mori** L, très apprécié pour sa soie et ses autres substances médicinales est sujet à différents stress biotiques et abiotiques, qui entraînent une perte considérable de rendement en soie. On observe 30 à 40 % de pertes de rendement en cocons à cause des différentes maladies (Chandrasekharan et coll., 2006). Parmi les maladies virales, la polyédrose nucléaire provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) est la plus sévère car elle est présente toute l'année. Bien que la plupart des pathogènes qui provoquent les maladies soient présents dans l'environnement, l'apparition de la maladie est une interaction entre l'hôte, le pathogène et l'environnement. Nous évoquons donc les pertes provoquées par la maladie, les agents étiologiques responsables de la manifestation de la maladie et les stratégies de lutte.*

La sériciculture est une industries rurale prometteuse en Inde, qui joue un rôle important dans le développement rural car elle emploie beaucoup de main d'œuvre, elle a une courte période de gestation et peut être développée en entreprise de type familial, qui demande des aptitudes limitées. Parmi les facteurs limitant la production de cocons, le facteur le plus important sont les maladies provoquées par les pathogènes viraux, bactériens et fongiques.

Parmi les maladies virales du ver à soie, *Bombyx mori* L, la grasserie provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) entraîne des pertes considérables de récoltes pour les sériculteurs. BmNPV est polyorganotropique et provoque une infestation systémique, en se multipliant dans les tissus et dans les organes principaux. La voie la plus courante de l'infestation par BMNPV est *per os*. Les vers malades agissent comme la principale source de l'infestation. Ce virus est membre de la famille des Baculoviridés, de la sous-famille des Eubaculovirinés (Francki et coll., 1991). Il est caractérisé par des virions en forme de bâtonnet contenant un génome d'ADN circulaire à double brin (Maeda et Majima, 1990).

La grasserie, le nom le plus courant de la maladie vient du français et se réfère à la condition laiteuse du liquide de l'hémolymphe des vers malades (Chitra et coll., 1975). Elle est connue populairement sous le nom de maladie laiteuse, de jaunisse, de maladie de la pendaïson et de maladie de la dégénérescence grasseuse.

INCIDENCE ET PERTES DUES A LA MALADIE DE LA GRASSERIE

En Inde, les pertes de récoltes dues à la maladie de la grasserie du ver à soie sont de 30 à 34 % (Vaidhya, 1960). Sur la perte totale de cocons récoltés, 71 % sont dus à la maladie de la flacherie et de la polyédrose du ver à soie (Sidhu et Singh, 1968). Chitra et coll., (1975) ont enregistré une perte de récolte due aux maladies virales de 20 à 40 % dans le Karnataka.

Samson (1985) a rapporté une perte de six pourcents due à la grasserie (1985). On a signalé une perte de 40 à 60 % due à la grasserie au Bangladesh (Barman et Pasha, 1986) et on a signalé une perte de 15 à 20 % au Karnataka (Baig et Pradip Kumar, 1987).

D'après l'étude réalisée dans différents états séricicoles de l'Inde, l'incidence de la grasserie est de 25 à 32 % dans le Jammu et Cachemire (Chisti et Sohaf, 1990). Une autre étude sur l'incidence de la maladie du virus de la polyédrose nucléaire chez le ver à soie montre que la grasserie représente 33 à 35 % de l'incidence totale des maladies (Ginjamang Simte, 1990). Subba Rao et coll., (1990) ont constaté que l'incidence de la grasserie dans le Bengale ouest est comprise entre 0,16 et 6,25 %. Samson et coll., ont signalé 32,8 % de pertes dans les parties du sud du Karnataka. Selon les chiffres de l'étude dans certains pays et dans certaines zones, les maladies virales représentent 70 à 80 % des pertes totales en vers à soie provoquées par les maladies (Anonyme, 1991). Savanurmah et coll., (1994) ont enregistré 53,5 % de pertes exclusivement dans les parties du nord du Karnataka. Dans le Tamil Nadu, parmi les quatre différentes zones étudiées par rapport à la maladie de la grasserie, pendant les mois d'été l'incidence est maximum (25 %) à Dharmapuri, suivi par Erode (15,5 %), Coimbatore (11,8 %) et Salem (9,13 %) (Sivaprakasam, 1994).

On a signalé que les fermiers n'obtiennent en moyenne que 3 à 4 récoltes réussies sur 5 à 6 récoltes par an, ce qui est principalement dû à l'incidence des maladies virales (Savanurmah et coll., 1994). Nataraju (1995) a rapporté une présence de la grasserie de l'ordre de 33 à 50 %. Sivaprakasam et Rabindra (1995) ont signalé que parmi les maladies, la grasserie est une maladie sévère provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire (NPV), qui représente plus de 15 % de pertes de rendement en cocons dans les conditions tropicales.

Selon Nataraju et coll., (1999), la mortalité provoquée par le virus de la polyédrose nucléaire et la flacherie avant le stade du cocon est comprise entre 0,10 et 4 %

Samson (2000) a signalé que la maladie la plus courante rencontrée sous les tropiques est la grasserie et son incidence est comprise entre 32,9 et 55,3 %. Shankar Rao (2000) ont observé que, sur une perte générale de 21 à 33 % par récolte, 4,21 % sont dus à la grasserie.

Chandrasekaran et coll., (2006) ont rapporté que le virus de la polyédrose nucléaire est la maladie principale, représentant une perte en moyenne de 30 à 40 % dans l'élevage du ver à soie. En plus de provoquer la mortalité larvaire, la maladie de la grasserie est aussi responsable de près de 50 % de la mortalité post-cocon.

FACTEURS PREDISPOSANTS

Lignées de vers à soie :

La prévention des maladies et le breeding de variétés de vers à soie présentant un degré de résistance élevé sont des aspects importants dans la sériciculture commerciale.

Plusieurs auteurs ont rapporté la différence de sensibilité des lignées de vers à soie japonaises et chinoises et des hybrides (Watanabe, 1966 ; Liu Shi Xian, 1984).

On a aussi signalé que les lignées de ver à soie bivoltines sont plus sensibles à la grasserie par rapport aux lignées polyvoltines (Liu Shi Xian, 1984 ; Sivaprakasam et Rabindra, 1995).

L'utilisation de variétés de vers à soie tolérant les maladies est la meilleure option pour la lutte contre les maladies. On dispose aussi de beaucoup d'informations au Japon sur l'augmentation de la tolérance des races polyvoltines indiennes à NPV (Funakoshi et Aizawa, 1989 ; Watanabe et coll. : 1994).

Les lignées de ver à soie bivoltines, NB7, NB18, NB4D2 présentent l'incidence la plus élevée de la maladie et les lignées polyvoltines, PCN, Pure Mysore, C. Nichi et MY1 présentent l'incidence minimum (Singh et coll., 1990).

Ginjamang Simte (1990) ont signalé que les hybrides polyvoltins × polyvoltins sont moins sensibles par comparaison à la combinaison polyvoltins × bivoltins ou bivoltins × bivoltins. Baig et coll., (1991) ont procédé à l'évaluation comparative de plusieurs races de *B. mori* à BmNPV et ils ont rapporté que les hybrides, même de parents sensibles ont une meilleure tolérance à BmNPV.

Selon Datta (1994), la majorité des races bivoltines disponibles en Inde sont d'origine exotique et viennent du Japon, de Chine et de France. Li et coll., (1994) ont observé que les variétés japonaises présentent une résistance plus importante à NPV.

Selon Nataraju (1995), parmi les hybrides polyvoltins \times bivoltins, PM \times NB4D2 est comparativement moins sensible à l'infestation BmNPV. Sivaprakasam et Rabindra (1995) ont signalé que C. nichii, Pure Mysore, et Tamil Nadu blanc sont significativement moins sensibles par comparaison aux bivoltins purs et aux hybrides.

Selon Ratna Sen et coll., (1997) la sensibilité des races de vers à soie indiennes diffère. Parmi, les races de vers à soie, les bivoltines sont moins sensibles que les polyvoltines.

Ils ont étudié la sensibilité des souches du germoplasme du ver à soie à BmNPV en Inde et signalé que parmi les 72 matériels parentaux, la mortalité est comprise entre 0 à 87 %, avec une attaque avec BmNPV à une concentration de 1×10^5 PIB / ml.

Les vers à soie bivoltins sont comparativement moins sensibles que les hybrides polyvoltins et que les lignées polyvoltines pures (Nataraju et coll., 1998).

Venkatesh (2000) a signalé que l'hybride KSO 1 \times SP 2 présente une meilleure tolérance à BmNPV.

Nataraju et coll., (2001) ont constaté, qu'en Inde, les études sur la sensibilité de différentes races de ver à soie à BmNPV ont montré que la sensibilité varie avec les races. On a signalé que les polyhédres de BmNPV à un dosage de 1×10^5 PIB / ml chez les polyvoltins provoquent une mortalité de 7,28 % chez Nistari et de 8,67 % chez Pure Mysore et chez les vers bivoltins, la mortalité est de 34 % chez CSR2 et de 41,34 % chez CSR5 (Kawakami, 2001).

Nagaraju (2002) a identifié la lignée polyvoltine BMI 027 pour sa tolérance à la grasserie et à la flacherie au RSRs, à Jorhat.

Jaiswal et coll., (2003) ont signalé que l'hybride bivoltin, CSR2 \times CSR5 est plus sensible par comparaison au croisement, BL23 \times NB4D2 après avoir réalisé une étude détaillée pendant différentes saisons. Sivaprasad et coll., (2003) ont signalé que parmi 145 lignées de ver à soie évaluées à partir des germoplasmes maintenus dans l'état de l'Andhra Pradesh, 18 bivoltins et 16 polyvoltins s'avèrent présenter une tolérance réelle à BmNPV. Ils ont aussi signalé que les lignées de ver à soie commerciales, Swarnandhra (APM1 \times APS 8) et Kalpatharuvu (APS 9 \times APS 8) tolèrent BmNPV.

Selon Ramesh Kumar (2004), les croisements P2D1 \times NB4D2, BL24 \times NB4D2 et PM \times APS8 s'avèrent très sensibles et les lignées, APM1 \times APS 8, PM \times CSR2 et PM \times NB4D2 s'avèrent moins sensibles à BmNPV.

Un anonyme (2005) a signalé que deux hybrides tolérant NPV, 2N \times 5N et 2N \times 61N s'avèrent être supérieurs avec une survie supérieure et de meilleurs paramètres du cocon.

Koundinya et coll., (2009) pensent que les lignées polyvoltines sont principalement d'origine indigène et présentent une résistance aux conditions climatiques hostiles et une tolérance aux maladies. Sivaprasad et coll., (2009) ont signalé que 88 germoplasmes de vers à soie constitués de 48 souches bivoltines et de 40 souches polyvoltines sont maintenus à l'APSSRI & DI, d'Hindupur, pour leur résistance ou leur tolérance à la maladie et quelques souches résistent ou tolèrent deux à trois virus.

Le taux effectif d'élevage est significativement maximum à la fois chez PM \times CSR2 (62,50 %) et chez MH1 \times CSR2 (61,11 %) lors de l'administration de BmNPV (Hadimani et coll., 2008).

Température et humidité / saison :

Les fluctuations de température et d'humidité (Steinhaus, 1949) ont été identifiées comme les facteurs prédisposant à la polyédrose nucléaire. On a aussi observé que l'incidence de BmNPV est plus élevée lors de changements soudains de la température ambiante d'une température supérieure à plus faible plutôt qu'avec des changements progressifs (Ishimori, 1951 ; Suzuki et Hayashita, 1955).

La température et l'humidité ont une influence directe sur l'incidence des maladies virales (Aratake et Kayamura, 1973) et ces facteurs se produisent de manière coaxiale. On a signalé que la température supérieure et l'humidité élevée provoquent la grasserie chez le ver à soie (Samson et coll., 1980).

Selon Matsubara et coll., (1984), les vers à soie deviennent manifestement plus sensibles aux polyédres à une température faible et élevée. Barman et coll., (1988) ont signalé que la température au-dessus de 28° C et une humidité de plus de 80 %, ainsi que de larges fluctuations de température et d'humidité sont les principaux facteurs qui induisent la maladie NPV du ver à soie.

Dans l'Andhra Pradesh, la maladie de la grasserie est plus sévère pendant la saison des pluies (juillet-octobre) et l'incidence est comprise entre 17 à 20 % (Swamy et Nagaraj, 1992). Pathak (1993) a observé 60 % d'incidence pendant la saison des pluies, suivie par l'hiver (50 %) et l'été (40 %). Baig et coll., ont enregistré l'incidence la plus élevée de 24,68 à 53,51 % pendant toute l'année au Karnataka. Prabhakar Rao et coll. (1997) ont signalé que l'incidence de la maladie virale est plus élevée, quand il y a une température inférieure et une humidité élevée surtout pendant les mois d'Octobre et de Novembre. Le ver à soie a besoin d'une température idéale de 24 - 28° C et de 70 à 90 % d'HR pour sa croissance et son développement. (Saratchandra, 1997).

Nataraju et coll., (1998) ont signalé que la polyédrose nucléaire du ver à soie est présente pendant différentes saisons dans les zones sérícicoles du Karnataka, en Inde. Sur toutes les maladies, la fréquence de la grasserie est en moyenne de 43,63 %. La fréquence de la maladie est très élevée en été (55,35 %), suivi par l'hiver (41,66 %) et par les saisons des pluies (32,97 %). Dandin et coll., (2000) ont signalé 100 % de polyédrose avec 100 % d'HR.

Qualité de la feuille :

Le ver à soie mûrier est sujet à l'infestation par les virus lorsqu'il se nourrit avec des feuilles à maturité différentielle, dont la qualité diffère (Krishnaswami et coll., 1970). Krishnaswami et coll., (1973) ont observé que l'alimentation avec des feuilles non adaptées est le principal facteur responsable de la grasserie et de la flacherie.

Le stockage prolongé des feuilles entraîne la perte de qualité de la feuille (Benchamin et Nagaraj, 1987) et a un effet sur la teneur en humidité des feuilles (Sarkar et coll., 1992), ce qui a donc un effet sur leur saveur pour les vers à soie, entraîne leur malnutrition et les rend sujets à des maladies virales. On sait que les feuilles avec peu de protéines, peu de saccharose et beaucoup de cellulose prédisposent les larves à la polyédrose nucléaire (Nataraju et coll., 1994).

L'alimentation avec des feuilles grossières, des feuilles tendres, des feuilles humides, des feuilles sales et des feuilles uniquement cultivées avec des engrais azotés, surtout l'urée aggrave la maladie (Govindan et coll., 1998). Venkatesh (2000) a signalé que le mélange de feuilles de différente qualité (âgées) pourrait entraîner une composition inadaptée et peut-être affecter le développement de la résistance chez les vers à soie. Shantha kumar et coll., (2000) ont signalé que le poids de la larve ainsi que l'incidence du virus de la polyédrose nucléaire sont influencés, lorsqu'on alimente les vers à soie avec des feuilles de mûrier aux différents niveaux de maturité. Selon Venkatesh et Patil (2001), la sensibilité aux maladies virales est directement proportionnelle au taux de détérioration de la qualité de la feuille de mûrier, associée à la conservation prolongée de la feuille. Ils ont aussi signalé que les fermiers perdent une quantité considérable de cocons récoltés en raison des maladies bactériennes et virales principalement à cause de la mauvaise qualité de la feuille de mûrier, associée à une désinfection et à une hygiène inappropriées.

Nataraju et coll., (2002) ont signalé que l'alimentation des vers à soie sur une feuille de mûrier de qualité inférieure, surtout dans les conditions climatiques hostiles de l'été les rendent très sensibles aux maladies. Shanthakumar et coll., (2006) ont signalé que le poids du cocon et la richesse soyeuse sont inférieurs quand on nourrit les larves avec des feuilles sales.

Environnement d'élevage :

On a rapporté que le stress produit par la surpopulation augmente la sensibilité des insectes aux maladies (Steinhaus, 1949). Samson et coll., (1980) ont signalé que la surpopulation et la faim sont des facteurs qui prédisposent à la grasserie chez le ver à soie.

Samson et coll., (1981) ont rapporté que la famine prolongée des larves augmente les pertes de cocons récoltés à cause de la grasserie. De nombreux auteurs ont signalé la famine prolongée de la larve comme un facteur important prédisposant à la grasserie (Attathom et Sinchaisri, 1987 ; Satish et Govindan, 1987).

Balavenkatasubbaiah et coll., (1989) ont signalé que la pièce, la claie, le support d'élevage et le papier du siège jouent un rôle principal comme source de contamination

Samson (1992) a rapporté qu'en dehors de la température et de l'humidité élevées de la pièce d'élevage et des fluctuations de la température et de l'humidité diurnes, de mauvaises conditions d'hygiène comme la température excessive dans la litière, l'absence de lieu d'élevage séparé et la mauvaise ventilation sont des facteurs qui prédisposent à la grasserie. Une densité élevée de la population de larves a un effet direct sur l'incidence de la grasserie (Samson, 1992 ; Patil et coll., 1993).

On a observé une augmentation significative de l'incidence de la grasserie dans les claies d'élevage, lorsque la densité larvaire augmente (Sivaprakasam et coll., 1997). Prabhakar Rao et coll., (1997) ont signalé qu'on observe des maladies bactériennes et virales dans la zone de Gulbarga dans les états du nord à cause de fluctuations environnementales plus importantes.

Le nettoyage irrégulier des litières et le nettoyage des litières à la main augmentent l'incidence de la maladie (Govindan et coll., 1998). On a rapporté que l'élevage continu associé à une mauvaise hygiène sont des facteurs responsables de l'apparition de la maladie (Samson, 1999).

Pratiques de désinfection :

La désinfection et le maintien de l'hygiène pendant l'élevage sont des facteurs essentiels à la prévention des maladies du ver à soie. Le but d'un désinfectant est de tuer et de désactiver les micro-organismes ou au moins de les limiter à un nombre significatif.

Golanski (1961) a signalé que le formol agit en pénétrant dans les corps d'inclusion pour dénaturer l'ADN viral, ce qui rend les virions occlus moins virulents pour les larves de vers à soie.

Le papzol, un produit chimique sous forme de poudre, diminue l'infestation par la grasserie de 47,42 à 100 %, quand on l'applique dans la litière une fois au cours de chaque âge (Noamani et Mukherjee, 1975).

Miyajima (1977) a étudié le rôle de la lumière du soleil comme mesure protectrice contre les maladies virales et observé que les virus se désactivent en 2 h d'exposition du papier du siège contaminé à la lumière du soleil, sur une surface en béton.

Samson (1987) a signalé que l'incidence de la maladie diminue de 10,3 à 3,39 % et le rendement en cocons augmente de 34,08 à 42,06 kg en utilisant du RKO, un désinfectant de litière. Des résultats similaires ont été obtenus par Radha et coll., (1989) et Sasidharan et Nageshwara Rao (1990).

Balavenkatasubbaiah et coll., (1989) ont signalé la désactivation du virus de la grasserie quand on expose les outils d'élevage à 6 h de lumière solaire vive.

Barman (1991) a signalé qu'un mélange de chaux, de paraformaldéhyde et de benzoate de sodium (94 : 3 : 3) ou de chaux, de paraformaldéhyde et d'acide benzoïque (95 : 3 : 2) comme désinfectant de litière est efficace contre la grasserie. Subba Rao et coll., (1992) ont signalé l'efficacité d'un mélange de chaux et de chlorure de chaux (97 : 3) contre la grasserie. L'utilisation des produits chimiques, c'est-à-dire de chlorure de chaux (5 %) avec de la chaux éteinte (0,3 %) (Subba Rao et coll., 1992), de formol (2 %), de stérinol et de l'aldépol (Sharma et coll., 1994) peut désactiver le virus.

Le chlorure de chaux à une concentration à 4,5 % est efficace contre tous les pathogènes y compris contre NPV (Balavenkatasubbaiah et coll., 1994). Sharma et coll., (1994) ont signalé que le formol

est un désinfectant efficace, suivi par le chlorure de chaux, l'asiphor, le stéridole et l'aldépol. On évite la contamination croisée par les pathogènes en désinfectant les surfaces avec des désinfectants de litière, c'est-à-dire, avec de la chaux, du Resham Jyothi, du Sanjeevini et du Vijetha (Patil, 1995).

Balavenkatasubbaiah et coll., (1996) ont signalé que le dioxyde de chlorure est un agent oxydant puissant, deux fois plus puissant que l'hypochlorure de sodium et 2,5 fois plus que le chlorure.

Datta et coll., (1998) ont rapporté l'efficacité du Vijetha (3 kg / 100 pontes saines) pour diminuer la grasserie de 62 % et augmenter le rendement en cocons à 47,16 kg / 100 pontes saines, par comparaison à 36,40 kg chez le témoin.

Il s'avère que le mélange de formol et de chlorure de chaux (1 : 1) est très efficace contre NPV. La dissolution des polyhédres a lieu dans des conditions alcalines et on observe donc une perte d'infectiosité du virus (Patil et Ramegowda, 1999).

Patil et Sharadamma (1999) ont signalé que le Sanjeevini est efficace à la fois contre la maladie de la grasserie et de la flacherie à Kolar et Bangalore. Singh et coll., (1999) ont signalé que l'application un jour sur deux de RKO et de paillettes de formol est plus efficace pour prévenir le virus de la polyédrose nucléaire dans des conditions normales, tout en améliorant les caractères de la larve et des cocons. Il s'avère qu'un mélange de formol et de chlorure de chaux (1 : 1) est très efficace contre BmNPV (Patil et Ramegowda, 1999).

L'application de poudre de curcuma + poudre de craie (1 : 5) à raison de 1 kg / 100 pontes saines trois fois, c'est à dire une fois pendant le troisième, le quatrième et le cinquième âge immédiatement après la mue, entraîne une diminution de la grasserie de respectivement 63,16 % en été et de 62,45 % en hiver, tout en améliorant les caractères de la larve et du cocon (Manimegalai et coll., 2000). L'application d'une formulation de désinfectant de litière botanique diminue significativement la contamination et la propagation des quatre maladies, c'est-à-dire la pébrine, la polyédrose nucléaire, la muscardine et la flacherie bactérienne (Sasidharan et coll., 2000).

On recommande une vaporisation de solution de chaux éteinte à 0,3 % en plus de la procédure habituelle de désinfection avant l'élevage, quand il s'est produit une incidence élevée de grasserie pendant l'élevage précédent (Kawakami, 2001). Shanthakumar et coll., (2001) ont rapporté que les désinfectants de litière tels que le Resham Jyothi, le Latex et le Sanjeevini donnent un poids de cocon, un poids de coque, une richesse soyeuse, une longueur de filament et un rendement à la bassine significativement plus élevés et un nombre de cocons par kg et de cocons défectueux moins élevés.

Venkataramana et coll., (2001) ont signalé que les combinaisons de paraformaldéhyde, de formaldéhyde, d'acide benzoïque et de chaux entraînent une incidence de grasserie inférieure. Nataraju et coll., (2001) ont signalé l'efficacité de 500 ppm de dioxyde de chlorure contre tous les pathogènes du ver à soie, quand on l'ajoute à de la chaux éteinte à 0,5 %. Irfan Illahi et coll., (2003) ont signalé l'efficacité de différents désinfectants de litière utilisés en Inde et constaté que le Vijetha est meilleur que d'autres produits chimiques contre la maladie de la grasserie. Manimegalai et Chandramohan (2006 a) ont montré le large spectre d'activité de la poudre Sakthi Seri contre les pathogènes du ver à soie.

LUTTE CURATIVE CONTRE LA MALADIE

Agents chimiques :

L'administration d'antibiotiques sert de mesure curative dans la lutte contre les maladies. Ueda et coll., (1955) ont signalé que la grasseriomycine isolée à partir d'une espèce de *Streptomyces* est efficace contre la jaunisse chez le ver à soie comme mesure thérapeutique. Gerhension (1958) a suggéré l'utilisation de sels de cobalt et de zinc avec la nourriture du ver à soie pour diminuer la fréquence de jaunisse spontanée (NPV) provoquée par le virus latent. Ovanesyana (1958) a constaté que le lactate 9-aminoacidine et le sulfate d'hydroxyquinoline ont un effet thérapeutique sur les vers à soie atteints par la jaunisse. L'utilisation de nitrate de cobalt et de sulfate de cobalt à une

concentration de 0,05 % avec la nourriture du ver à soie diminue la fréquence de NPV (Gershenson, 1958). Rejiro (1972) a signalé que la leucomycine et la fructosazine diminuent l'incidence de CPV et de NPV.

Radha et Muthukrishnan (1980) ont signalé que l'ajout d'antibiotiques tels que la tétracycline, la pénicilline et la streptomycine aux feuilles diminue efficacement l'incidence de la grasserie. La gentamycine à 0,1 % donne l'ERR maximum de 92,26 % et diminue l'incidence de la grasserie et de la flacherie. Baburashvili et coll., (1984) ont constaté que l'immanine à 0,1 % diminue la fréquence de la polyédrose de 100 % en trois heures d'alimentation normale. Liu et Hou (1985) ont signalé que quand on nourrit des larves de ver à soie avec des feuilles qui ont été trempées dans de l'ecdystéroïde Mayuran, au taux de 0,4 mg / ml, l'infestation NPV est contenue de manière efficace. La tétracycline, la pénicilline, l'érythromycine et la streptomycine contrôlent efficacement l'apparition de la grasserie chez la race CBV, tandis que chez la race KP, la streptomycine et l'enterocycline sont plus efficaces (Radha et coll., 1989).

Baig et coll., (1990) ont signalé que l'application de gentamycine à 0,1 % donne l'ERR maximum de 92,25 % et diminue l'incidence de la grasserie. Quand on injecte de l'ecdystérone à raison de 0,4 µg par larve soit avant soit après avoir inoculé le NPV, la mortalité NPV diminue (Hou et Yang, 1990).

Un vaccin contre la polyédrose nucléaire a été mis au point et les vaccinations multiples ont donné des résultats prometteurs au niveau du laboratoire (Rabindra, 1994).

Sivaprakasam et Rabindra (1996) ont étudié l'effet du traitement des feuilles de mûrier avec de l'hydroxyde de calcium chez les vers à soie inoculés avec du NPV et signalé qu'une application de 100 ppm une fois pendant le troisième âge diminue l'incidence de la grasserie.

Battacharya et coll., (1998) ont signalé l'efficacité de la rifampicine pour diminuer la mortalité des vers infestés par NPV, suivi par le chloramphénicol. Chemysh et coll., (1998) ont signalé que la consommation d'ecdystérone, de glycoside de solanidine et d'aralosides augmente la tolérance des larves du 5^{ème} âge à NPV.

Uma et coll., (1999) ont signalé l'efficacité de deux agents antiviraux, la Ribavirine et l'acide nalidixique contre le virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) inoculé aux vers à soie.

Produits à base de plantes :

Les produits botaniques servent de mesure non nuisible à l'environnement et curative pour lutter contre la grasserie. Rabindra (1994) a signalé que l'extrait aqueux de feuille de *Psoralea corylifolia* et de *Tribulus terrestris* ont donné des résultats prometteurs avec une suppression de la polyédrose nucléaire de l'ordre de 61,01 à 72,46 %. Sivaprakasam (1994) a signalé que l'extrait aqueux de *P. corylifolia* à 800 ppm est meilleur que la gentamycine (50 ppm) ou que l'hydroxyde de calcium (100 ppm) pour diminuer la mortalité larvaire provoquée par la grasserie. Plusieurs auteurs ont démontré l'efficacité de *P. corylifolia* contre BmNPV (Samuel Manohar Raj, 1994 ; Sivaprakasam et Rabindra, 1996 ; Sugun, 2001). Manoharan (1996) a rapporté l'efficacité d'*Acacia suma* Roxb et de *Caesalpinia coriaria* Jecq pour diminuer la mortalité provoquée par la grasserie chez les larves du troisième âge. Mallika (1997) a signalé une diminution de la grasserie de 79,5 % grâce à l'administration de *P. corylifolia*. Elle a aussi observé que les substances botaniques ne présentent pas d'effet toxique.

La psoracine de *P. corylifolia* s'avère avoir une activité antivirale contre BmNPV (Sugun, 1998). Murugan et coll., (1998) ont signalé que les extraits de *Tribulus terrestris*, de *Boerhavia diffusa* et de *Phyllanthus niruri* augmentent la consommation et la croissance du ver à soie, en augmentant la bio-disponibilité des nutriments pour la digestibilité en insufflant plus d'énergie.

Un anonyme (1998) a identifié un ensemble de huit extraits de plantes qui suppriment la polyédrose nucléaire de l'ordre de 80 à 90 %. Sugun (1999) a suggéré l'utilisation de *P. corylifolia*, une plante médicinale potentielle non nuisible à l'environnement et facilement disponible pour lutter contre BmNPV comme alternative aux désinfectants de litière. Sivaprakasam (1999) a signalé que

les extraits aqueux d'une formulation botanique de *C. coriaria*, de *P. corylifolia* et d'*A. suma* diminuent significativement la maladie de la grasserie de respectivement 74,80 %, de 73,53 % et de 72,80 %.

Venkataramana et coll., (2003) ont signalé que l'administration orale de feuilles de mûrier additionnées de 800 - 1000 ppm d'extrait aqueux de *P. corylifolia* (Seri-guard) comme nourriture du ver à soie pendant trois saisons différentes, c'est-à-dire pendant l'été, la saison des pluies et l'hiver dans des conditions tropicales, s'avère efficace pour diminuer la durée larvaire, augmenter le poids larvaire, le taux de survie et les caractères du cocon et aussi pour prévenir l'apparition de la maladie de la grasserie.

Raje Urs (2004) a signalé que l'administration de l'extrait aqueux de sept substances botaniques donne 24 à 40 % plus de survie que le témoin. Ranganatha et coll., (2004) ont démontré l'efficacité de *P. corylifolia* et de *Plectranthus amboinicus* contre BmNPV dans des études histopathologiques.

Le Seri-rich est une formulation anti-virale à base de plantes comprenant des substances anti-virales isolées chez les plantes et on a signalé qu'il est efficace contre toutes les maladies du ver à soie (Anonyme, 2005). L'administration orale de *Spirulina platensis* à 10 % permet la résistance à BmNPV (Mahesh Babu et coll., 2005).

Manimegalai et Chandramohan (2006b) ont signalé que l'administration de 800 ppm d'extrait de graine de *P. corylifolia* et d'extrait de feuille de *P. amboinicus* aux larves du troisième âge du croisement du ver à soie PM × NB4D2 entraîne une diminution de la mortalité de 57,63 et de 59,78 %, contre 61,63 % chez le témoin standard, l'extrait de feuille de *P. corylifolia*, tout en améliorant les paramètres économiques. Padma et Manimegalai (2007) ont signalé un % de survie plus élevé avec les traitements à 800 ppm de *P. amboinicus* et de *P. corylifolia* (74,67 %), suivis par *Tribulus terrestris* (72 %). Les composants antiviraux, c'est-à-dire le 20-Deoxo-carnosol et le 6 β Hydroxycarnosol (groupe des diterpénoides) de *P. amboinicus* et le Bakuchicin et le Bavacoumestan de *P. corylifolia* ont été caractérisés par Padma (2007) et s'avèrent être efficaces contre BmNPV.

Lutte intégrée contre les maladies :

Sivaprakasam et Rabindra (1996) ont conclu que la désinfection des encabanages en bambou, suivie par l'application de Resham Keet Oushadh (RKO) après chaque mue et l'alimentation avec des feuilles de mûrier traitées avec de l'extrait aqueux de *P. corylifolia*, à raison de 800 ppm une fois pendant le troisième et le cinquième âge du ver à soie diminuent la maladie de la grasserie, tout en améliorant les caractères de la larve et du cocon.

L'administration d'une concentration de trois antibiotiques c'est-à-dire le Rifamicine, le Chloramphénicol et le Cifran à 0,5 %, tout en suivant les mesures de précaution, sert d'approche intégrée efficace pour lutter contre BmNPV (Bhattacharya et coll., 1998).

Une approche intégrée consiste en la désinfection de la magnanerie, au maintien de l'hygiène, au saupoudrage de Vijetha et à l'apport de phytoformulations (une fois pendant le deuxième repas des 3^{ème}, 4^{ème} et dernier âges) et s'avère efficace pour supprimer la grasserie, sans effet négatif sur la santé de la larve du ver à soie et sur les paramètres du cocon (Nataraju et coll., 2005).

Murugesh et Manimegalai (2008) ont suggéré une approche de gestion intégrée pour faire face aux problèmes de la maladie de la grasserie chez le ver à soie.

Les essais sur le terrain de lutte contre la grasserie dans trois endroits différents du Tamil Nadu révèlent que l'utilisation de poudre Seri TNAU et de produit à base de plante à 800 ppm donne une mortalité larvaire de 22,17 % et augmente le rendement de 17,19 % (Mahalingam et Murugesh, 2008).

Détection précoce des pathogènes :

Pour faciliter la lutte contre les maladies, on peut aussi procéder à la détection précoce des pathogènes en utilisant les méthodes d'immunodiagnostic telles que les tests d'agglutination aux latex et le dosage immunologique dipstick à base d'enzymes. On peut aussi étudier la contamination

BmNPV dans la pièce d'élevage par l'administration orale de polyoxine AL, un inhibiteur de la chitine (Iyengar, 2006).

De nombreux auteurs ont aussi signalé le rôle des enzymes, c'est-à-dire les protéases et les lipases, l'hormone de mue, la β Ecdysone et la protéine fluorescente rouge dans le mécanisme de défense contre BmNPV.

Ainsi, en plus des stratégies de lutte mentionnées plus haut, on peut aussi penser aux possibilités d'ajouter des précurseurs ou des substances à l'alimentation des vers à soie pour déclencher la production d'enzymes, d'hormones et de la protéine fluorescente rouge, puisque le breeding de lignées résistantes à la maladie est un défi car la maladie est contrôlée par des gènes multiples.

DIFFERENTIAL IMPACT OF UDP-N-ACETYLGLUCOSAMINE ANALOG ON NUCLEOPOLYHEDROVIRUS INFECTION BETWEEN *BOMBYX MORI* (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE) AND *SPODOPTERA LITURA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

TORU ARAKAWA, FUMIKO YUKUHIRO, OSAMU NAMBA, KEN TATEISHI & HIROAKI NODA

National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan.

*We investigated the effect of UDP-N-acetylglucosamine analog nikkomycin Z on the infection of nucleopolyhedrovirus BmNPV and SpltNPV in the silkworm *Bombyx mori* and the common cutworm *Spodoptera litura*, respectively. Viral occlusion bodies were inoculated into the third instar *B. mori* and *S. litura* larvae with nikkomycin Z that induced failure of the gut peritrophic membrane formation. Nikkomycin Z enhanced the viral infection in both the lepidopteran species. Nikkomycin Z showed far greater effect in *B. mori* than that in *S. litura*.*

Keywords: *Bombyx mori*, Nikkomycin Z, Nucleopolyhedrovirus, *Spodoptera litura*.

INTRODUCTION

Baculoviruses including nucleopolyhedrovirus (NPV) are used in pest control (Moscardi, 1999) and they are study targets for silkworm protection in sericulture. Suppressing the insect antiviral mechanism may lead to enhanced infection by pathogenic viruses in the host. Chemicals enhancing viral infection have been sought for use as additives in viral insecticides (Goto, 1999) and such a chemical was utilized as a tool for hypersensitive bioassay of viral contamination in sericultural environment (Arakawa and Nozawa, 2005). An optical brightener is the first likely candidate for such an insecticide additive because it enhances infection by many NPV species (Arakawa *et al.*, 2000; Shapiro & Robertson, 1992; Shapiro & Vaughn, 1995). Furthermore, it was found that chitin synthesis inhibitors had the same effect as brighteners on BmNPV infection in the silkworm *Bombyx mori* (Arakawa, 2002; 2003; Arakawa & Sugiyama, 2002). Nikkomycin Z, an analog of UDP-N-acetylglucosamine that inhibits chitin synthesis, enhanced BmNPV infection at 5 ppm, which is the lowest dosage with the highest effectiveness so far reported (Arakawa & Sugiyama, 2002). Defective formation of the gut peritrophic membrane (PM) is a common symptom shared by the host insects treated with these chemicals. Thus, PM hypothetically serves as a protective barrier against NPVs.

In Japan, the nucleopolyhedrovirus SpltNPV infecting the common cutworm *Spodoptera litura* has been a candidate for microbial insecticide for killing *S. litura* (Kamiya & Sobue, 2007; Okada, 1977). A wettable powder containing SpltNPV occlusion bodies (OBs) was registered as an insecticide in 2007, which is now available in the market. Development of a technique for enhancing SpltNPV infection would lead to the preferential use of this viral insecticide to control *S. litura*. In sericultural study, a hypersensitive bioassay of BmNPV utilizing a larva without the PM could trace the virus in silkworm rearing environments (Arakawa, 2008a). In the present study, we examined an effect of nikkomycin Z on *S. litura* larvae in terms of SpltNPV infectious enhancement and compared the effect with that in *B. mori*.

MATERIALS AND METHODS

Nikkomycin Z is a chitin-synthesis inhibitor. *S. litura* larvae ingesting a diet containing 150 ppm nikkomycin Z failed in molting at a molting stage although larvae ingesting a diet with 50 ppm nikkomycin Z developed normally (Arakawa *et al.*, 2008). An artificial diet Silkmate 2S (1.9 g; Nohan Corporation Co., Ltd., Yokoyama, Japan) was mixed with 0.1 mg nikkomycin Z (Sigma-Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA) in 0.1 ml distilled water (DW) to obtain a diet containing 50 ppm nikkomycin Z. The common cutworm *S. litura* was reared as described previously (Arakawa, 2008b). Five pharate third instar larvae were put in a plastic cup with the diet containing nikkomycin Z and reared at 25° C. After 24h, midgut was excised from the larvae and processed in the same manner as in Arakawa (2008b) for light-microscopic observation. Then, the midgut morphology was examined by phase contrast microscope. Control larvae were reared with diet without nikkomycin Z.

Hasmon-Tenteki (Hasmon-T), a commercial insecticide and a wettable powder containing SpltNPV OBs ($> 1 \times 10^9$ OBs/g) was purchased from Nippon-Kayaku Co., Ltd, Tokyo, Japan. A diet paste containing virus (viral paste) was prepared and inoculated to larvae as follows. Silkmate 2S (1.9 g) was mixed with 0.1 mg nikkomycin Z in 90 μ l DW, 10 μ l Hasmon-T dilutions that was diluted one or ten-hundred-fold (10^{-2} and 10^{-3}) and kneaded with spatula, which resulted in 50 ppm nikkomycin Z. Forty-eight larvae of pharate third instar *S. litura* were reared in a plastic cup with the viral paste containing nikkomycin Z for 48 h at 25° C and then transferred to solitary rearing with normal diet for additional 12 days and the number of dead larvae by viral infection was counted. Control larvae were fed with viral paste without nikkomycin Z.

BmNPV (strain A505) OB suspension was prepared in the same manner as in Arakawa (2002). Silkmate 2S (4.75g) was mixed with 0.1 mg nikkomycin Z in 100 μ l DW, 150 μ l OB suspension and kneaded with spatula, which resulted in 20 ppm nikkomycin Z and 2.1×10^2 or 2.1×10^3 OBs / g paste. Third instar *B. mori* larvae immediately after molting were reared with the viral paste for 48 h at 25° C and then reared with normal diet for additional 5 d. Then, the number of dead larvae by viral infection was counted. Control larvae were fed with viral paste without nikkomycin Z.

RESULTS

The midgut of a control *S. litura* larva is shown in Fig. 1-A. The midgut tissue consisted of serried cells on which a brush border layer was clearly visible. PM was found on the brush border layer, which isolated the tissue from direct contact with the food bolus. Administration of 50 ppm nikkomycin Z with the diet disturbed midgut morphology (Fig. 1B) A brush border layer was not clearly identified. PM was not sharply visible between the midgut tissue and food bolus and some fragments of PM-like structure were found on the midgut cells. Similar results were obtained in all the larvae sacrificed.

Nikkomycin Z enhanced the infection of BmNPV and SpltNPV in their host species significantly (Table 1). In *B. mori*, all larvae ingesting the chemical died by viral infection while all the control larvae survived. In *S. litura*, a portion of larvae died by viral infection in both the control and the experimental, in which nikkomycin Z increased the infectious ratio.

DISCUSSION

In the present study, it was shown that nikkomycin Z drastically enhanced the infection of a nucleopolyhedrovirus BmNPV in *B. mori*. On the other hand, although nikkomycin Z substantially enhanced the infection of SpltNPV in *S. litura*, it was less effective than that in BmNPV - *B. mori* system despite the fact that this chemical impaired PM structure in *S. litura*.

Table I. Effect of oral administration of nikkomycin Z on the virulence of BmNPV and Hasmon-T (SpltNPV) in *B. mori* and *S. litura*, respectively.

Tableau I. Effet de l'administration orale de nikkomycine Z sur la virulence de BmNPV et de Hasmon-T (SpltNPV) chez respectivement *B. mori* et *S. litura*.

Host Species	Concentration of nikkomycin Z administered with virus	Virus dose ^a	Replicates	No of larvae used in each assay	No of dead larvae by viral infection		Chi-square	
					Control	Experimental	Calculated Value	Test ($\alpha = 0.01$)
Espèce hôte	Concentration de nikkomycine Z administrée avec le virus	Dose virale ^a	Répétitions	Nbre de larves utilisées dans chaque évaluation	Nbre de larves mortes par infestation virale		Chi-carré	
					Témoins	Expérimentales	Valeur calculée	Test ($\alpha = 0,01$)
<i>B. mori</i>	20 ppm	2.1×10^2 (OBs/g)	1	30	0	30	56.1	Significant / Significatif
			2	30	0	30	56.1	Significant / Significatif
	20 ppm	2.1×10^3 (OBs / g)	1	30	0	30	56.1	Significant / Significatif
			2	30	0	30	56.1	Significant / Significatif
<i>S. litura</i>	50 ppm	10^{-3}	1	48	5	28	22.3	Significant / Significatif
			2	48	4	19	11.2	Significant / Significatif
	50 ppm	10^{-2}	1	48	14	43	33.9	Significant / Significatif
			2	48	16	39	20.6	Significant / Significatif

a. Viral dose for *B. mori* was represented by a number of BmNPV OBs in 1 g viral paste served to the third instar larvae and that for *S. litura* was represented by dilution extent of Hasmon-T suspension, an insecticide containing SpltNPV OBs, used to prepare the viral paste. / a. La dose virale pour *B. mori* est représentée par un certain nombre d'OB de BmNPV dans 1 g de pâte virale administrée à des larves du 3^{ème} âge et celle pour *S. litura* est représentée par le degré de dilution de la suspension Hasmon-T, un insecticide contenant des OB de SpltNPV utilisés pour préparer la pâte virale.

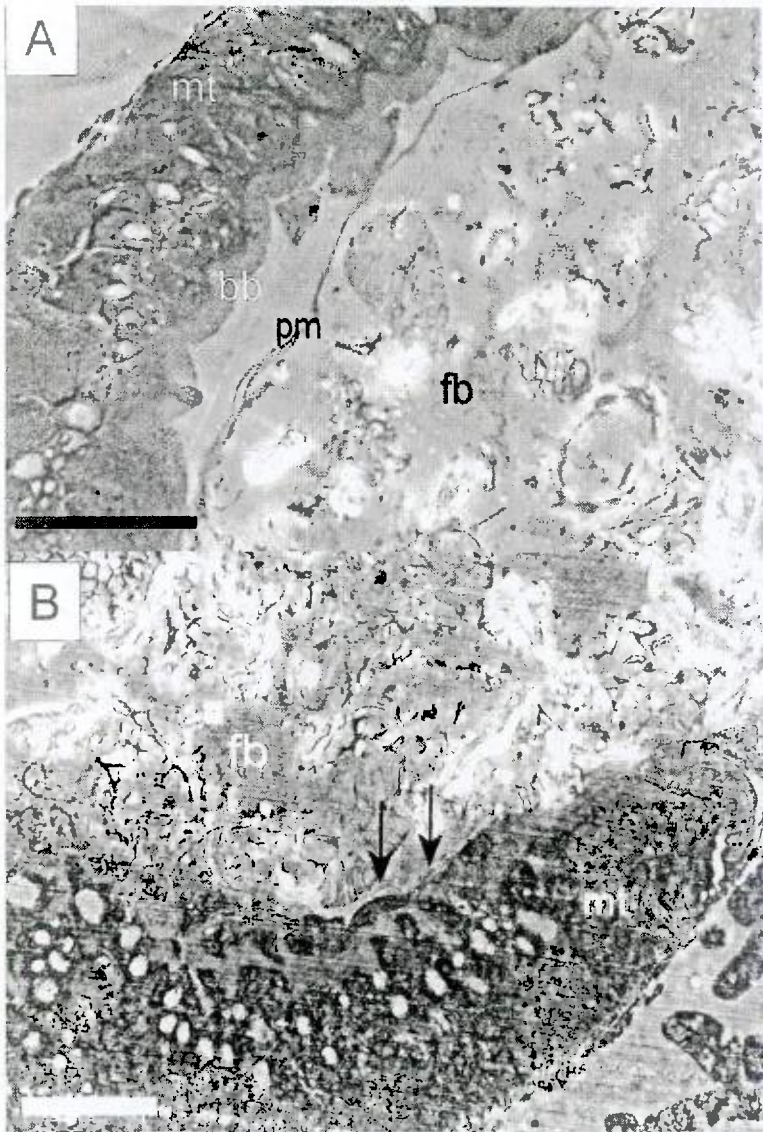


Fig. 1. Effects of nikkomycin Z incorporated into the diet on the midgut of a third instar *S. litura* larva. (A) Midgut of a control larva. Midgut tissue (mt) and its brush border layer (bb) are separated from the food bolus (fb) by the peritrophic membrane (pm). (B) Midgut of a larva ingesting 50 ppm nikkomycin Z. An intact peritrophic membrane is not found. Debris-like structures of the membrane are observed (arrows). Abbreviations are common to (A) and (B). Bar = 50 μ m.

Fig. 1. Effets de la nikkomycine Z incorporée dans l'alimentation sur l'intestin moyen de larves de *S. litura* du troisième âge.

(A) Intestin moyen d'une larve témoin. Le tissu de l'intestin moyen (mt) et la couche de bordure en brosse (bb) sont séparés du bol alimentaire (fb) par la membrane péritrophique (pm). (B) Intestin moyen d'une larve ayant ingéré 50 ppm de nikkomycine Z. On ne trouve pas de membrane péritrophique intacte. On observe des structures comme des débris de la membrane (flèches). Les abréviations sont communes à (A) et à (B). Barre = 50 μ m.

Therefore, the contribution of PM for preventing viral infection would differ between *B. mori* and *S. litura*. Hypothetically, the PM would be less important as an anti-viral barrier in *S. litura*.

Whether, *S. litura* larvae have some anti-NPV mechanisms other than the PM in their gut is of particular interest. Okuno *et al.*, (2003) reported that an oral application of Tinopal UNPA-GX (Tinopal), a kind of optical brightener, with SpltNPV enhanced the viral infection 2188 fold in *S. litura* larvae. Thus, there may be some antiviral mechanisms that Tinopal inactivates. There are two hypotheses for the viral enhancement mechanism of the optical brightener. PM has a chitinous skeleton (Wang and Granados, 2001). Stilben-derived optical brighteners involving Tinopal binds to chitin fibrils and disturbs their assembly resulting in deficient formation of the PM skeleton in the gut when administered perorally, which is a possible mechanism for their enhancing ability to infect (Wang and Granados, 2000, 2001). In contrast, Washburn *et al.*, (1998) showed that the optical brightener M2R prevented sloughing of viral-infected midgut cells, which is a putative antiviral function of the insect midgut and would presumably lead to an enhanced viral infection. The present study inferred that the gut PM in *S. litura* is less important for inhibiting viral infection. Putatively, *S. litura* resists against Splt NPV by sloughing of viral-infected midgut cells. Another UDP-N-acetylglucosamine analog polyoxin B also exerted a similar effect on the SpltNPV infection and the PM structure (unpublished data).

In *B. mori*, chitin-synthesis inhibitors (polyoxin B and nikkomycin Z) drastically enhanced BmNPV infection (Arakawa, 2003; Arakawa and Sugiyama, 2002). Tinopal also enhanced BmNPV infection (Arakawa *et al.*, 2000). Whether chitin-synthesis inhibitors and Tinopal work in the same manner for enhancing BmNPV infection is of interest. The chitin-synthesis inhibitors possibly work by destroying the PM because they are UDP-N-acetylglucosamine analogs, which are antagonistic pseudo-substrates of chitin synthase (Cohen, 1987). If Tinopal and the chitin synthesis inhibitors work by different mechanisms their combined administration would be more effective than individual administration. However, studies based on such an idea produced negative results in *B. mori* (unpublished data). A review of these studies indicated that Tinopal and chitin-synthesis inhibitors enhanced BmNPV infection by destroying the PM in *B. mori*.

Chemicals that enhance viral infection are determined by the mode of antiviral mechanism of each insect. Chitin synthesis inhibitors worked effectively in *B. mori* but worked less effectively in *S. litura*. Therefore, a suitable strategy for enhancing the viral infection would differ from species to species.

REFERENCES

- ARAKAWA T., KAMIMURA M., FURUTA Y., MIYAZAWA M. & KATO M. (2000) Peroral infection of nuclear polyhedrosis virus budded particles in the host, *Bombyx mori* L. enabled by an optical brightener, Tinopal UNPA-GX. *J. Virol. Methods*, 88 145-152.
- ARAKAWA T. (2002) Promotion of nucleopolyhedrovirus infection in larvae of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) by flufenoxuron. *Appl. Entomol. Zool.*, 37: 7-11.
- ARAKAWA T. & SUGIYAMA M. (2002) Promotion of nucleopolyhedrovirus infection in larvae of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) by an antibiotic, nikkomycin Z. *Appl. Entomol. Zool.*, 37: 393-397
- ARAKAWA T. (2003) Chitin synthesis inhibiting antifungal agents promote nucleopolyhedrovirus infection in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) larvae. *J. Invertebr.*, 83: 261-263.
- ARAKAWA T. & NOZAWA M. (2005) A sensitive bioassay for nucleopolyhedrovirus using silkworms, *Bombyx mori* L., treated with a chitin synthesis inhibitor. *Appl. Entomol. Zool.*, 40: 105-111.

- ARAKAWA T. (2008a) Epidemiological importance of silkworm body surface for persistence of viral contamination by nucleopolyhedrovirus of *Bombyx mori* L. in an artificial rearing environment. *Sericologia*, 48: 23-30
- ARAKAWA T. (2008b) Synergistic effect of a fungicide containing polyoxin B with insect growth regulators (IGRs) in the killing of common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 43: 167-171.
- ARAKAWA T., YUKUHIRO F. & NODA H. (2008) Insecticidal effect of a fungicide containing polyoxin B on the larvae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), *Mamestra brassicae*, *Mythimna separata* and *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl. Entomol. Zool.* 43: 173-181.
- COHEN E. (1987) Chitin biochemistry: synthesis and inhibition. *Annu. Rev. Entomol.*, 32: 71-93.
- GOTO C. (1999) Trend of study on enhancement of virus infection for insect pest. *Shokubutsu Boeki*, 53: 303-307 (In Japanese).
- KAMIYA K. & SOBUE Y. (2007) Development of a microbial pesticide with selected clones of nuclear polyhedrosis viruses isolated from the common cutworm in Japan. *Shokubutsu Boeki*, 61: 210-213 (in Japanese).
- MOSCARDI J. (1999) Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 44: 257-289.
- OKADA M. (1977) Studies on the utilization and mass production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus for control of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius. *Bull. Chugoku Nation. Agr. Exp. Sta.*, E12: 1-66 (in Japanese with English summary).
- OKUNO S., TAKATSUKA J., NAKAI M., OTOTAKE S., MASUI A. & KUNIMI Y. (2003) Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Biol. Contr.*, 26: 146-152.
- SHAPIRO M. & ROBERTSON J. L. (1992) Enhancement of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) baculovirus activity by optical brighteners. *J. Econ. Entomol.*, 88: 265-269.
- SHAPIRO M. & VAUGHN J. L. (1995) Enhancement in activity of homologous and heterologous baculoviruses infectious to cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) by an optical brightener. *J. Econ. Entomol.*, 88: 265-269.
- WANG P. & GRANADOS R. R. (2000) Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 30: 135-143.
- WANG P. GRANADOS R. R. (2001) Molecular structure of the peritrophic membrane (PM) identification of potential target sites for insect control. *Arch Insect Biochem. Physiol.*, 47: 110-118.
- WASHBURN J. O., KIRKPATRICK B. A., HAUS-STAPLETON E. & VOLKMAN L. E. (1998) Evidence that the stilben-derived optical brightener M2R enhances *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus infection of *Trichoplusi ni* and *Heliothis virescens* by preventing sloughing of infected midgut epithelial cells. *Biol. Contr.*, 11: 58-69.

IMPACT DIFFÉRENTIEL DE L'ANALOGUE D'UDP-N-ACÉTYLGLUCOSAMINE SUR L'INFESTATION PAR LE VIRUS DE LA POLYÉDROSE NUCLEAIRE CHEZ *BOMBYX MORI* (LEPIDOPTERE : BOMBYCIDES) ET CHEZ *SPODOPTERA LITURA* (LEPIDOPTERE : NOCTUIDAE)

TORU ARAKAWA, FUMIKO YUKUHIRO, OSAMU NAMBA, KEN TATEISHI
& HIROAKI NODA

National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japon.

Nous avons étudié l'effet de la nikkomycine Z, l'analogue de l'UDP-N-acétylglucosamine, sur l'infestation par le virus de la polyédrose nucléaire BmNPV et par SpltNPV chez respectivement le ver à soie Bombyx mori et le ver gris courant, Spodoptera litura. On inocule les corps d'occlusion viraux aux larves de B. mori et de S. litura du 3^{ème} âge avec de la nikkomycine Z, qui induit l'échec de la formation de la membrane péritrophique de l'intestin. La nikkomycine Z augmente l'infestation virale chez les deux espèces de lépidoptères. La nikkomycine Z présente un effet beaucoup plus important chez B. mori que chez S. litura.

INTRODUCTION

On utilise les baculovirus y compris le virus de la polyédrose nucléaire (NPV) dans la lutte contre les insectes (Moscardi, 1999) et ils sont des sujets d'étude pour la protection du ver à soie en sériciculture. La suppression du mécanisme antiviral de l'insecte pourrait entraîner l'augmentation de l'infestation par les virus pathogènes chez l'hôte. On a cherché des substances chimiques augmentant l'infestation virale pour les utiliser comme des additifs dans des insecticides viraux (Goto, 1999) et une substance chimique de ce type a été utilisée comme outil dans un essai biologique hypersensible de contamination virale dans l'environnement séricicole (Arakawa et Nozawa, 2005). Un azurant optique a été le premier candidat possible comme additif de ce type à un insecticide, parce qu'il augmente l'infestation par de nombreuses espèces de NPV (Arakawa et coll., 2000 ; Shapiro et Robertson, 1992 ; Shapiro et Vaughn, 1995). De plus, on a constaté que les inhibiteurs de la synthèse de la chitine ont le même effet que les azurants sur l'infestation BmNPV chez le ver à soie *Bombyx mori* (Arakawa, 2002 ; 2003 ; Arakawa et Sugiyama, 2002). La nikkomycine Z, un analogue de l'UDP-N-acétylglucosamine, qui inhibe la synthèse de la chitine, augmente l'infestation BmNPV à 5 ppm, ce qui est le dosage le plus faible avec l'efficacité la plus élevée signalée jusqu'à présent (Arakawa et Sugiyama, 2002). La formation défectueuse de la membrane péritrophique de l'intestin (PM) est un symptôme courant partagé par les insectes hôtes traités avec ces produits chimiques. Ainsi, la PM sert probablement de barrière protectrice contre les NPV.

Au Japon, le virus de la polyédrose nucléaire SpltNPV, qui infeste le ver gris courant *Spodoptera litura* a été candidat à un insecticide microbien pour tuer *S. litura* (Kamiya et Sobue, 2007 ; Okada, 1977). Une poudre mouillable contenant des corps d'inclusion de SpltNPV a été déposée comme insecticide en 2007 et est maintenant disponible sur le marché. La mise au point d'une technique pour augmenter l'infestation SpltNPV entraînerait l'utilisation préférentielle de cet insecticide viral pour lutter contre *S. litura*. Dans une étude séricicole, une évaluation hypersensible de BmNPV en utilisant une larve sans PM a permis de retrouver le virus dans les environnements d'élevage du ver à soie

(Arakawa, 2008a). Dans cette étude, nous avons examiné l'effet de la nikkomycine Z chez les larves *S. litura* en termes d'augmentation infectieuse de SpltNPV et comparé son effet avec celui chez *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Le nikkomycine Z est un inhibiteur de la synthèse de la chitine. Les larves de *S. litura*, qui ingèrent un aliment contenant 150 ppm de nikkomycine Z n'arrivent pas à muer au stade de la mue, bien que les larves qui ingèrent un aliment avec 50 ppm de nikkomycine Z se développent normalement (Arakawa et coll., 2008). On a mélangé un milieu artificiel Silkmate 2S (1,9 g ; Nohan Corporation Co., Ltd., Yokoyama, Japon) avec 0,1 mg de nikkomycine Z (Sigma-Aldrich Co. Ltd., St. Louis, MO, USA) dans 0,1 ml d'eau distillée (DW) pour obtenir un milieu contenant 50 ppm de nikkomycine Z. On a élevé le ver gris courant d'après les descriptions précédentes (Arakawa, 2008b). On a placé cinq larves pré-adultes du 3^{ème} âge dans une tasse en plastique avec le milieu contenant la nikkomycine Z et on les a élevées à 25° C. Au bout de 24 h, on excise l'intestin moyen des larves et on le traite de la même manière qu'Arakawa (2008b) pour une observation au microscope optique. Puis, on examine la morphologie de l'intestin moyen avec un microscope à contraste de phase. Les larves témoins sont élevées avec un milieu sans nikkomycine Z.

On achète un insecticide commercial, Hasmon-Tenteki (Hasmon-T) et une poudre mouillable contenant des Obs de SpltNPV ($> 1 \times 10^9$ OBs / g) auprès de Nippon-Kayaku Co., Ltd, Japon. On prépare une pâte alimentaire contenant le virus (pâte virale) et on l'inocule aux larves comme suit. On mélange du Silkmate 2S (1,9 g) avec 0,1 mg de nikkomycine Z dans des dilutions de 90 µl de DW, 10 µl d'Hasmon-T, dilué une ou dix fois (10^{-2} et 10^{-3}) et on mélange avec une spatule, ce qui donne 50 ppm de nikkomycine Z. On élève 48 larves de *S. litura* du 3^{ème} âge dans une tasse en plastique avec la pâte virale contenant la nikkomycine Z pendant 48 h à 25° C, puis on les transfère à un élevage solitaire avec une alimentation normale pendant 12 jours supplémentaires et on compte le nombre de larves mortes par infestation virale. Les larves témoins sont nourries avec de la pâte virale sans nikkomycine Z.

On prépare une suspension d'OB de BmNPV (souche A505) de la même manière qu'Arakawa (2002). On mélange du Silkmate 2 S (4,75g) avec 0,1 mg de nikkomycine Z dans 100 µl de DW, dans 150 µl de suspension d'OB et on mélange avec une spatule, ce qui donne 20 ppm de nikkomycine Z et $2,1 \times 10^2$ ou $2,1 \times 10^3$ OB / g de pâte. On élève les larves du 3^{ème} âge de *B. mori* immédiatement après la mue avec la pâte virale pendant 48 h à 25° C, puis on les élève avec une alimentation normale pendant cinq jours supplémentaires. On compte le nombre de larves mortes par infestation virale. On nourrit les larves témoins avec de la pâte virale sans nikkomycine Z.

RESULTATS

L'intestin moyen d'une larve de *S. litura* témoin est présenté dans la Fig. 1A. Le tissu de l'intestin moyen est constitué de cellules serrées sur lesquelles une couche de bordure en brosse est clairement visible. On trouve la PM sur la couche de bordure en brosse, qui isole le tissu du contact direct avec le bol alimentaire. L'administration de 50 ppm de nikkomycine Z avec le milieu dérange la morphologie de l'intestin moyen (Fig. 1B). On n'a pas clairement identifié de couche de bordure en brosse. La PM n'est pas clairement visible entre le tissu de l'intestin moyen et le bol alimentaire et on trouve certains fragments d'une structure comme la PM dans les cellules de l'intestin moyen. On a obtenu des résultats similaires chez toutes les larves sacrifiées.

La nikkomycine Z augmente significativement l'infestation de BmNPV et de SpltNPV chez leurs espèces hôtes (Tableau 1). Chez *B. mori*, toutes les larves qui ingèrent le produit chimique meurent par infestation virale, tandis que toutes les larves témoins survivent. Chez *S. litura*, une partie des

larves meurent par infestation virale à la fois chez le témoin et chez les larves expérimentales chez qui la nikkomycine Z augmente le ratio d'infestation.

DISCUSSION

Dans cette étude, on a montré que la nikkomycine Z augmente radicalement l'infestation par le virus de la polyédrose nucléaire BmNPV chez *B. mori*. D'autre part, bien que la nikkomycine Z augmente considérablement l'infestation de SpltNPV chez *S. litura*, elle est moins efficace que chez le système BmNPV – *B. mori*, bien que cette substance chimique abîme la structure de la PM chez *S. litura*.

La contribution de la PM à l'empêchement de l'infestation virale diffère entre *B. mori* et *S. litura*. On peut émettre l'hypothèse que la PM est moins importante comme barrière anti-virale chez *S. litura*.

Il est particulièrement intéressant de savoir si les larves *S. litura* ont des mécanismes anti-NPV autres que la PM dans leur intestin. Okuno et coll., (2003) ont signalé que l'application orale de Tinopal UNPA-GX (Tinopal), un type d'azurant optique avec SpltNPV augmente l'infestation virale de 2188 fois chez les larves de *S. litura*. Il pourrait donc y avoir des mécanismes antiviraux que le Tinopal désactive. Il existe deux hypothèses dans l'augmentation du mécanisme viral avec l'azurant optique. La PM a un squelette chitineux (Wang et Granados, 2001). Les azurants optiques obtenus à partir du Stilben impliquant le Tinopal se lient aux fibrilles de chitine et dérangent leur assemblage, ce qui entraîne une formation défectueuse du squelette de la PM dans l'intestin, quand on l'administre oralement, qui est un mécanisme probable d'augmentation de leur capacité à infester (Wang et Granados, 2000, 2001). A l'opposé, Washburn et coll., (1998) ont montré que l'azurant optique, le M2R empêche de se débarrasser des cellules de l'intestin moyen infestées par le virus, qui est une fonction antivirale supposée de l'intestin moyen de l'insecte et cela entraînerait probablement l'augmentation de l'infestation virale. Cette étude a conclu que la PM de l'intestin chez *S. litura* est moins importante dans l'inhibition de l'infestation virale. Apparemment, *S. litura* résiste à SpltNPV en se débarrassant des cellules de l'intestin moyen infestées par le virus. Une autre polyoxine B analogue de l'UDP-*N*-acetylglucosamine exerce un effet similaire sur l'infestation par SpltNPV et sur la structure de la PM (données non publiées).

Chez *B. mori*, les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (le polyoxine B et la nikkomycine Z) augmentent radicalement l'infestation par BmNPV (Arakawa, 2003 ; Arakawa et Sugiyama, 2002). Le Tinopal augmente aussi l'infestation par BmNPV (Arakawa et coll., 2000). Il est intéressant de savoir si les inhibiteurs de la synthèse de la chitine et le Tinopal fonctionnent de la même manière pour augmenter l'infestation par BmNPV. Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine fonctionnent probablement en détruisant la PM, parce que ce sont des analogues de l'UDP-*N*-acetylglucosamine qui sont des pseudo-substrats antagonistes de la chitine synthase (Cohen, 1987). Si le Tinopal et les inhibiteurs de la synthèse de la chitine fonctionnent avec des mécanismes différents, leur administration combinée serait plus efficace que leur administration individuelle. Cependant, les études basées sur une idée semblable donnent des résultats négatifs chez *B. mori* (données non publiées). Une revue sur ces études indique que le Tinopal et les inhibiteurs de la synthèse de la chitine augmentent l'infestation BmNPV en détruisant la PM chez *B. mori*.

L'augmentation de l'infestation virale par les substances chimiques est déterminée par le mode de mécanisme antiviral de chaque insecte. Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine fonctionnent efficacement chez *B. mori*, mais fonctionnent moins efficacement chez *S. litura*. Les stratégies adaptées pour augmenter l'infestation virale diffèrent donc d'une espèce à l'autre.

INFLUENCE OF ANTIBIOTICS AND PROBIOTICS ON ENDOGENOUS GUT MICRO FLORA IN SILKWORM *BOMBYX MORI*

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

Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, India. entosubra@yahoo.co.in

Synthetic antibiotics viz., Streptomycin, Tetracycline, Erythromycin, Levofloxacin, and Ciprofloxacin were evaluated for their effect on gut microflora load of two Indian breeds of silkworm, Bombyx mori viz., Pure Mysore and CSR 2. Administration of antibiotics has proved to cause inhibition of gut microflora population in vivo with 49.62 to 61.06 per cent reduction in gut bacteria populations of PM race and 54.61 to 57.93 per cent reduction in CSR2 race. Antibiotic treatments also resulted in decrease in population of endogenous gut actinomycetes to the tune of 36.36 to 50 per cent in both the silkworm breeds evaluated.

Considering the sensitivity of gut flora to antibiotics, studies were carried out to explore the influence of probiotic application of silkworm gut derived actinomycetes, Streptomyces noursei @ 10⁷ g⁻¹ on the growth and development of silkworm. Probiotic applications of S. noursei had resulted in increase of endogenous actinomycetes population by 123.08 and 141.86 per cent respectively in PM and CSR2 with improvement in economic parameters like larval weight, cocoon weight, shell weight and shell ratio in both the breeds. In case of PM, the probiotic application accounted for 27.78% increase in larval weight, 4.76% rise in cocoon weight, 8.33% rise in shell weight and 6.3% increase in shell ratio. For CSR2 race, the probiotic application resulted in 26.34, 6.06 and 10.71 per cent increase respectively in larval, cocoon and shell weights and 5.66 per cent rise in shell ratio. The study underscores the prospects of silkworm gut derived probiotics in improving economic parameters of silkworm breeds.

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, Gut microflora, Indian breeds, antibiotic Probiotic, *Streptomyces noursei*.

INTRODUCTION

Gut microbiology of insects has received enormous attention in the recent years with the characterization of novel microflora from several orders of insects. Beneficial role of gut microbiota in insects like termites and Scaroboidea have well been documented while the gut of Lepidopteran insects including silkworms received scant attention in the past. However, recent studies have thrown light on the multifaceted role played by the gut microflora in lepidopterans in semiochemical production, detoxification of metabolites, colonization resistance apart from providing essential nutrients for the growth and development of the insects by acting as 'microbial brokers' (Dillon and Dillon, 2004).

The intestinal content of silkworm *B. mori* was earlier considered as sterile and was attributed to the higher alkaline (pH 9 to 10) nature of silkworm gut (Itaya, 1953). However, later studies illustrated rich diversity of gut microflora of silkworm with Ghosh (1962) describing four species of

* Corresponding author

Micrococcus from the guts of Indian silkworm breeds; Brooks, 1963 reported natural bacterial flora from the guts of several insects including silkworm, Steinhaus (1963 & 1967) described bacterial isolates from healthy silkworm larvae and Mohanraj, 2009 characterized the diversity of gut microflora in select Indian silkworm breeds.

Studies by Kalpana *et al.* (1995) highlighted the quantitative and qualitative changes effected by gut bacterial flora in different stages of silkworm larvae as the gut bacteria played an important role in the digestion of ingested food material. The bacteria inhabiting the gut of silkworm were found to be elaborating amylase, caseinase, gelatinase, lipase and urease. Although mulberry leaves could satisfy major nutrient requirements of silkworm larvae, some of the nutrients are supplied by their gut bacteria. Synthesis of cobalamine could be realized only through the actinomycetes in digestive tubes (Bosticco and Arnaudo, 1955).

The microflora in the alimentary canal system was found to be very sensitive to antibiotics. The elimination of spirochaetes by antibiotics resulted in decreased survival of termites (Eutic *et al.*, 1970). Streptomycin and Kanomycin were found to be removing symbionts which were helpful for reproduction in tephritid flies (Chinarajan *et al.*, 1972). In mango stem borer, elimination of microorganisms with a mixture of antibiotics such as Tetracycline, Streptomycin and Chloramphenicol resulted in weight reduction and reduced activity of amylase and invertase (Surulivelu, 1977). When cockroach was treated with metranidazole, the anaerobic micro flora present in the intestinal tract of the insect was completely eliminated (Brake *et al.*, 1978; Gijzen *et al.*, 1991) resulting in poor growth and reduced reproductive capacity. Further more, the drug reduced enzyme activity in the hind gut and mid gut (Cruden and Markovetz, 1979) and also methane production (Gijzen *et al.*, 1991).

Antibiotics are widely used in sericulture industry as a component of bed disinfectants and as therapeutic application against bacterial diseases. Considering the beneficial role played by the gut microflora and the sensitivity of the microbes to the antibiotics, the present investigation was taken up to assess the intrinsic influence of antibiotics on the gut microflora of select Indian silkworm breeds and to explore probiotic application of *S. noursei* (an actinomycetes isolated from Indian silkworm breeds) on the growth and development of silkworm.

MATERIALS AND METHODS

Maintenance of silkworm breeds:

Disease free layings of pure races of silkworm *viz.*, Pure mysore (multivoltine) and CSR2 (bivoltine) were obtained from Central Sericultural Germplasm Resources Centre, Hosur and Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore. Healthy mulberry leaves of variety, V1 were fed to the silkworm breeds. The silkworm breeds were grown in rearing room under hygienic conditions with optimum temperature (25-28 °C) and relative humidity (60-70%). The mulberry leaves were washed thoroughly in running water, shade dried and surface sterilized under UV light before being given as feed to silkworms. Leaf feeding was given 3-4 times a day after hatching.

Effect of antibiotics on silkworm:

The commonly used antibiotics like Streptomycin, Erythromycin, Tetracyclin, levofloxacin and Ciprofloxacin were evaluated for their influence on gut microflora. Antibiotic solutions were prepared in sterile distilled water @ 250 µg/l and were sprayed on mulberry leaves using hand sprayer. The mulberry leaves were freshly collected, washed thoroughly, surface sterilized under UV light, dipped in antibiotics solution and shade dried for some time. For each batch of larvae, the antibiotic dipped leaves were given as first feed once during III, IV and V instars.

Isolation and Enumeration of gut microflora:

Two day old healthy fifth instar larvae were selected and kept under starvation up to 4-6 hours for isolation of gut bacteria and actinomycetes. The larvae were surface sterilized with alcohol and dissection was carried out under aseptic conditions. After extraction, the guts were homogenized in 0.1 M Potassium phosphate buffer (pH 7.0); washed three times with glutaraldehyde-free phosphate buffer, transferred to vials and stored at 5° C until further use (Breznak and Pankratz, 1977). Spread plate technique (Robert, 1967) was followed to enumerate microbial population in the gut. Culture dependent techniques using Nutrient Agar, Ken knights and Crawford mediums were adopted for isolation and enumeration of gut bacteria and actinomycetes. Generic identification of actinomycetes was done using morphological/ biochemical characteristics [Identification courtesy: Indian Microbial Type culture Collection Centre and Gene Bank, Chandihar, India].

Preparation of culture filtrates of *S. noursei*:

A 24 hrs old culture of actinomycetes at 1% concentration was inoculated into Nutrient Agar broth and kept in a shaker for incubation for about 7 days. The actinomycetes growth was recorded in broth cultures by observing its turbidity. The actinomycetes broth cultures were centrifuged at 10,000 rpm for 10 min and the supernatant was discarded. The cell pellets were further washed with alkaline phosphate buffer for 10 min to maintain the pH. The washed cell pellets were resuspended in the sterile water (Sahin, 2003).

Probiotic application of actinomycetes:

Live culture filtrates of *S. noursei* prepared as described were given as 'probiotics' to silkworm larvae through feed supplementation. Freshly collected mulberry leaves were dipped in culture filtrates of *S. noursei* @ 10^7 cfu g⁻¹ and the leaves were shade dried for some time. Each batch of larvae (PM and CSR2 breeds) were given actinomycetes treated leaves once during first feeding of fifth instar. Growth and development parameters of silkworm viz., larval weight, the cocoon weight, shell weight and shell ratio were recorded.

Probiotics Vs gutmicrobiota and silkworm economic parameters:

Enumeration of actinomycetes during fifth instar was done to assess the influence of probiotics on the endogenous gut microflora. Role of probiotics on growth and development of silkworm was assessed by measuring silkworm economic parameters viz., larval weight, cocoon weight, shell weight and shell ratio upon ingestion of mulberry leaves treated with probiotics.

RESULTS

Comparative gut microflora in pure races of silkworm:

Normal gut microflora were enumerated from healthy larvae of pure races viz., Pure Mysore and CSR2 (Table I). Perusal of the data suggests that there was a striking difference in gut microflora load of multi and bivoltine pure races. The guts of CSR2 recorded significantly higher load of bacteria (2.84×10^7 cfu g⁻¹), and actinomycetes (4.3×10^2 cfu g⁻¹) than that of Pure mysore.

Effect of antibiotics on endogenous gut microflora:

Endogenous gut microflora which were enumerated from silkworm larvae were fed with antibiotic suspensions once during third, fourth and fifth instars. Significantly lower gut microbial load than the untreated control shows that all antibiotics used in the present study were equally detrimental on endogenous gut microflora (Table II).

Table I. Enumeration of bacteria and actinomycetes from pure races of silkworm.

Tableau I. Dénombrement des bactéries et des actinomycètes des races pures de ver à soie.

Silkworm breeds <i>Lignées de ver à soie</i>	Gutmicrobe population (cfu/ml)	
	<i>Population de microbes de l'intestin (cfu / ml)</i>	
	Bacteria ($\times 10^7$) <i>Bactéries ($\times 10^7$)</i>	Actinomycetes ($\times 10^2$) <i>Actinomycètes ($\times 10^2$)</i>
Pure Mysore	2.62 _b	2.8 _b
CSR 2	2.84 _a	4.3 _a
t value (P = 0.05) / <i>valeur t (P = 0,05)</i>	5.54*	24.81*

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

* Significant at P = 0.05 Means followed by same letters are not statistically different / *Significatif à P = 0,05. Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas différentes sur le plan statistique.*

Table. II Role of antibiotics on gut microflora.

Tableau II. Rôle des antibiotiques sur la microflore de l'intestin.

Treatment <i>Traitement</i>	Bacteria ($\times 10^6$ cfu / ml)		% of reduction over control		Actinomycetes ($\times 10^6$ cfu / ml)		% of reduction over control	
	<i>Bactéries ($\times 10^6$ cfu / ml)</i>		<i>% de diminution par rapport au témoin</i>		<i>Actinomycètes ($\times 10^6$ cfu / ml)</i>		<i>% de diminution par rapport au témoin</i>	
	PM	CSR 2	PM	CSR 2	PM	CSR 2	PM	CSR 2
Streptomycin <i>Streptomycine</i>	1.02	1.1	61.06	56.82	1.2	2.1	45.45	50.00
Erythromycin <i>Erythromycine</i>	1.2	1.2	53.43	54.98	1.4	2.2	36.36	47.61
Tetracyclin <i>Tetracycline</i>	1.3	1.2	49.62	54.61	1.3	2.6	40.90	38.09
Levofloxacin	1.2	1.2	51.91	54.98	1.1	2.4	50.00	42.85
Ciprofloxacin	1.3	1.1	49.62	57.93	1.2	2.2	45.45	52.38
Control / <i>Témoin</i>	26.2	27.1			2.2	4.2		
	SED	NS CD (0.05)		SED	NS CD (0.05)			
L	0.06	0.21		0.01	0.03			
A	0.10	0.30		0.02	0.05			

L*- Race / *Race*, A*- Antibiotic / *Antibiotique*.

The antibiotics treatment resulted in 49.62 to 61.06% reduction in gut bacterial flora in PM breed, while 54.61 to 57.93% reduction in gut bacterial load was noticed in CSR2. With regard to actinomycetes, 36.36 to 50% reduction in population was noticed due to antibiotic treatment in PM race while 38 to 50% reduction in actinomycetes was recorded in CSR 2 race.

Table III. Influence of probiotic actinomycetes application on endogenous actinomycetes population.

Tableau III. Influence de l'application d'actinomycètes probiotiques sur la population endogène d'actinomycètes.

Days after treatment	Multivoltine (PM)		Bivoltine (CSR2)	
	Actinomycetes count ($\times 10^2$ cfug ⁻¹)	% rise over control	Actinomycetes count ($\times 10^2$ cfug ⁻¹)	% rise over control
Nbre de jours après le traitement	Polyvoltin (PM)		Bivoltin (CSR2)	
	Compte en actinomycètes ($\times 10^2$ cfug ⁻¹)	% d'augmentation par rapport au témoin	Compte en actinomycètes ($\times 10^2$ cfug ⁻¹)	% d'augmentation par rapport au témoin
1	3.3 b	29.2 d	4.5 a	4.65 d
2	4.2 c	61.53 c	5.5 b	20.93 c
3	4.6 c	76.92 b	8.2 c	95.35 b
4	5.8 d	123.08 a	10.4 d	141.86 a
Control / Témoin	2.6		4.3	

Means followed by same letters are not statistically different / Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas différentes sur le plan statistique.

Probiotics *vis a vis* endogenous gut bacteria:

To assess the influence of probiotic application of *S. noursei* on autochthonous gut actinomycetes population of PM and CSR2, live cultures of *S. noursei* derived from silkworm were administered @ 10^7 g⁻¹ during first feeding of 5th instar larvae of silkworm. Endogenous actinomycetes population was periodically followed through for 4 days at every 24 hours. Perusal of the data presented in Table III shows the gradual increase in actinomycetes population from first to fourth day of application. About 123.08 and 141.86 per cent increase in endogenous actinomycetes was recorded respectively in PM and CSR 2 races at 4th day after probiotic application.

Table IV. Influence of probiotic actinomycetes application on growth and development of PM and CSR2 races of silkworm.

Tableau IV. Influence de l'application d'actinomycètes probiotiques sur la croissance et sur le développement des races PM et CSR2 du ver à soie.

Race	Treatment	Larval weight (g)	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Shell ratio (%)
	Traitement	Poids larvaire (g)	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
Pure Mysore	Treated / <i>Traité</i>	3.25	1.32	0.26	21.2
	Control / <i>Témoin</i>	2.52	1.26	0.24	18.2
	% increase over control % d'augmentation par rapport au témoin	27.78	4.76	8.33	6.3
CSR 2	Treated / <i>Traité</i>	3.31	1.40	0.31	22.4
	Control / <i>Témoin</i>	2.62	1.32	0.28	21.2
	% increase over control % d'augmentation par rapport au témoin	26.34	6.06	10.71	5.66

Influence on growth and development:

The data presented in Table IV revealed that probiotic application of *S. noursei* resulted in significant improvement in larval weight, cocoon weight, shell weight and shell ratio in both the silkworm breeds, PM and CSR 2. In case of PM race, the probiotic application accounted for 27.78% increase in larval weight, 4.76% increase in cocoon weight, 8.33% increase in shell weight and 6.3% increase in shell ratio. For CSR2 race, the probiotic application resulted in 26.34, 6.06 and 10.71 per cent increase respectively in larval, cocoon and shell weight and about 5.66% increase in shell ratio.

DISCUSSION

Enumeration of gut microflora from pure races of silkworm:

Enumeration of gut microflora from pure races of silkworm revealed that bivoltine breed, CSR2 recorded significantly higher bacterial load (2.84×10^7 cfu g⁻¹) and actinomycetes (4.3×10^2 cfu g⁻¹) compared to that of multivoltine breed, Pure Mysore. The results are in line with the findings of Neelu Nangia *et al.*, (1999) who had reported that bivoltine breed NB4D2 harboured higher load of bacteria (16.5×10^4 cfu g⁻¹) in comparison to Pure Mysore and a cross breed, PM × NB4D2. Their studies also brought out the fact that bacteria were dominant micro flora in the gut of silk worm breeds. The higher gut bacterial load of bivoltine breed may be responsible for robust size and feeding potential of bivoltine breeds in general and the availability of greater niche for colonization.

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

Effect of antibiotics on gut microflora:

Experimental results presented in Table II revealed that all the five synthetic antibiotics were equally detrimental on endogenous gut microflora. The antibiotic treatments resulted in 49.62 to 61.06% reduction in gut bacteria population of PM race, while percent reduction in CSR2 race was to the tune of 54.61 to 57.93%. The actinomycetes population also declined in both the races due to antibiotic treatment.

Antibiotics are widely used in sericulture industry for the maintenance of healthy, disease free worms and especially in the management of flacherie disease. Several reports have outlined the beneficial aspects of antibiotics on growth and development of silkworm (Murthy *et al.* (1952); Murthy *et al.* 1954; Shyamala and Bhat (1959); Coates (1969); Verma and Kughwaha. (1971) Radha *et al.* (1981); Radhakrishnarai and Devaiah (1988); Tayade *et al.* (1988); Sasiharan *et al.* (1993) and Dechu *et al.* (1997). The beneficial effect of antibiotics was attributed to their perceived role in efficient utilization of the nitrogen (7%), mineral constituents (28%) and Crude fat (20%) in silkworm larvae.

Contrary to these reports, some of the investigations have pointed out the detrimental effects of antibiotics on insects. Application of antibiotics was reported to cause the decline of gut microflora in several insects (Jarosz, 1979; Dillon and Charnley, 1986; Murphy *et al.*, 1994). Administration of antibiotic was reported to have a detrimental effect on intestinal microflora of silkworms. Shyamala *et al.* (1960) reported that chloromycetin administration caused general reduction in gut bacterial population, of silkworms. It was observed that population of endogenous gut bacteria *viz.*, *Micrococci*, *Streptococci* and *Flavobacteria* were reduced in number with concomitant increases in the number of coliforms consequent of chloromycetin administration (Shyamala *et al.*, 1960). Sometimes, the excessive application of antibiotics resulted in increased mycosis as in *Galleria mellonella* (Jarosz, 1979).

Recent studies on physiology of insect gut microflora have underscored several beneficial effects like colonization resistance, production of defense chemicals and secondary metabolites and promoting overall growth and development of host insects (Dillon, 2004). Although most of the commercial antibiotics are derivatives of actinomycetes, they could not fully complement the beneficial aspects of live gut microflora. Results of the present study are thus in agreement with some of the early works that caution is to be dreaded in using antibiotics in silkworm as it would cause a dent on population of beneficial gut microflora, when applied in excess.

The term "Probiotics" refers to administration of live beneficial microbes. Usage of probiotics is more common in human and veterinary medical sciences. Probiotics formulations are commercially used for human (Brigidi *et al.*, 2001), for aquaculture (Douillet and Langdon, 1994) while there are no reports on the availability of probiotics formulations specifically designed for silkworms.

S. noursei strain used in the present study was originally isolated and purified from an Indian silkworm breed. The results presented in Table III clearly demonstrate the positive influence of probiotic applications of *S. noursei* @ 10^7g^{-1} on the population of endogenous actinomycetes. Being a native isolate, it more readily colonized the gut of silkworm breeds within 24-48 h after application. Singh *et al.* (1999) observed improvement in larval body weight, cocoon weight, shell weight and pupation percentage of silkworm larvae when fed on mulberry leaves treated with a commercial

probiotic formulation containing *Lactobacillus plantarum*. As gut microflora colonizing silkworm are unique for their special adaptability to suit the high pH regimen of the silkworm gut, it is to be investigated whether *L. plantarum* could colonize the silkworm gut and its physiological interactions with endogenous gut microflora of silkworm, *B. mori*.

The data presented in Table IV show that probiotic application of *S. noursei* exerted a positive influence on the economic parameters of silkworm with significant increase in larval, cocoon and shell weights and shell ratio. As maximum weight gain in silkworm larvae occurs during fifth instar with higher turnover of nutrients, application of probiotics during first feeding of fifth instar might have facilitated better digestion and assimilation of nutrients. Dillon and Dillon (2004) regarded gut microbiota as valuable metabolic source for insects. Kalpana *et al.*, 1994 reported that most of the gut bacterial isolates from silkworm crossbreed, PM × NB4D2 were protease producers followed by lipid and polysaccharide splitters. Katiyar and Pant (1987) observed that abundant presence of microorganism in both the mid and hind gut regions of eri silkworm, *Philosamia ricini* was responsible for cellulose secretion and as such aid in the digestion of high cellulose content of castor leaves. Early workers of silkworm nutrition speculated the role of actinomycetes aiding in synthesis of Vitamin B12 in *B. mori*. The fact that administration of antibiotics resulted in drastic reduction in gut actinomycetes population suggests that actinomycetes in silkworm gut are metabolically active. As the *S. noursei* strain used in the present study was originally derived from the guts of Indian silkworm breeds (Mohanraj, 2007) it has more survival value in colonizing the guts of Indian silkworm breeds and the probiotic application of the indigenous actinomycetes might have facilitated better turn over of nutrients effecting an improvement in silkworm economic parameters.

Growth promoting aspects of *Streptomyces* genus has well been documented. Through production of secondary metabolites and acting as metabolic switch, they synthesize essential nutrients, vitamins, and growth hormones to fulfill the requirement of hosts. Apart from producing antibiotics, they are also used to counter the invading pathogens in the intestine of animals (Watve *et al.*, 2001; Korn-wendish *et al.*, 1992; Goodfellow *et al.*, 1988).

The Gram-positive bacteria of the genus *Streptomyces* are the main producers of macrolide polyketides many of which have applied potential as pharmaceuticals like erythromycin (antibacterial), nystatin (antifungal), avermectin (antiparasitic), rapamycin (immunosuppressant) and daunorubicin (antitumor) and the genetics and biochemistry of polyketide biosynthesis in these organisms are relatively well characterized (Hopwood, 1997). Functional analysis of *S. noursei* isolated from silkworm breeds revealed their antibiotic potential against a range of Gram positive and Gram negative bacteria and it was found to inhibit the germination of conidia of entomopathogens *B. bassiana* and *M. anisopliae* *in vitro* (Mohanraj, 2007). Hence it is probable to assume that probiotic application of *S. noursei* with its manifold biological functions, exert a positive influence on overall growth and development of silkworm larvae.

CONCLUSION

Antibiotics are widely used in sericulture industry as a component of synthetic diets for silkworm rearing or as an ingredient in bed disinfectant formulation besides its utility in managing bacterial flacherie disease in silkworm. Drastic reduction in endogenous gut microbes consequent of antibiotic treatments calls for stringent use of antibiotics for silkworm rearing. Application of probiotics has gained momentum as neutraceuticals for human medicine, poultry and aquaculture, it is high time to explore the use of probiotics for augmenting sericultural productivity. As autochthonous microbes more readily colonize the gut environment, formulations of probiotics comprised of beneficial gut microflora of silkworm would be ideal candidates for enhancing growth and development parameters of silkworm. Investigations of the present study demonstrated the utility of probiotic applications of *S. noursei* in augmenting economic parameters of silkworm. Identification and characterization of

beneficial gut microflora of silkworm breeds would enrich the probiotic formulations for use in sericulture industry.

REFERENCE

- BOSTICCO A., ARNAUDO M. (1955) Antagonism between toxigenic fungi and a strain of *Streptomyces* sp. Atti. Soc. Ital. sci. vet. 8: 272-75.
- BRAKE A. E., LINDOW S.E., ARNY D. C., UPPER A C. D (1978) Abundance and distribution of the gut flora of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. J. Invertebr. Pathol. 38: 378-385.
- BREZNAK J. A., PANKRATZ H. S. (1977) *In situ* morphology of the gut microbiota of wood-eating termites (*Reticulitermes flavipes* and *Coptotermes formosanus*). Appl. Environ. Microbiol. 33: 406-426.
- BROOKS M. A. (1963) The microorganisms of healthy insects. In *Insect Pathology: An Advanced Treatise*, (ed.) E.A Steinhaus, Academic Press, London, 215-18.
- CHINARAJAN L., PORTEOUS L A , WOOD M. (1972) Microbial Catabolism of vanillate: Decarboxylation to guaiacol. Appl. Environ. Microbiol. 38: 539-543.
- COATES E. M. (1969) In: Sebrell, Jr. W. It and Harries, R. S. (eds). The vitamins Acedamic press, New york ,2: 212-214.
- CRUDEN D. L ., MARKOVETZ A. I. (1979) Carboxymethyl cellulose decomposition by intestinal bacteria of cockroaches. Appl. Environ. Microbiol. 38: 369-372.
- DECHU P. S., GOVINDAN R., DEVAIAH M. C ., NARAYANASWAMY T. K. (1997) Effect of antibiotics on growth and cocoon parameter of silkworm, *Bombyx mori* L. Mysore J. Agric. Sci. 31: 41-46.
- DILLON R. J. ,CHARNLEY A. K. (1986) Invasion of the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* through the gut of germ free locusts. Mycol. Pathologia. 96: 59-66.
- DILLON (2004) Re-assessment of the role of the insect gut microbiota. Department of biology and biochemistry, University of Bath, Bath Ba2 7AY, England. <http://www.answering-christianity.com/plenaryrd.html>.
- DILLON R. J., DILLON V. M. (2004) The gut bacteria of insects: non pathogenic interactions. Ann. Rev. Entomol. 49: 71-92.
- DOUILLET P., LANGTON C.J. (1994) use of probiotic for the culture of larvae of the pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture. 119:25-40.
- EUTICK M. L., VIEVERS R., O'BRIEN W. (1970) Transconjugation between bacteria in the digestive tract of the cutworm *Peridroma saucia*. Appl. Environ. Microbiol. 56: 1492-1493.
- GHOSH R. K. (1962) Studies on the normal alimentary flora of the silkworm larvae (*Bombyx mori* Linn.). Indian J. Seric. 16: 10-13.
- GIJZEN S., SCHIPPERS B., KLOWDEN M. J. (1991) Bacterial population dynamics in three anopheline species: the impact on Plasmodium sporogonic development. Am. J. Trop. Med. Hyg. 54: 214-218.
- GOODFELLOW M., WILLAMS S.T., MORDARSKI M. (1988) Actinomycetes in biotechnology, London. Acaemic Press.
- HOPWOOD D.A. (1997) Genetic contributions to understanding polyketide synthases. Chem. Rev. 97 : 2465-2497.
- ITAYA M. (1953) Theoretical and experimental physiology of the silkworm in *Insect physiology* (ED) Roeder.K.D., John Wiley & Sons, New York.
- JAROSZ (1979) Gut flora of *Galleria mellonella* suppressing ingested bacteria. J. Invertebr. Pathol. 34: 192-198.
- KALPANA S., HATHA A. M., SWAMY L. P (1995) Gut micro flora of the larva of silkworm, *Bombyx mori*. Insect Science and its Application. 15: 4 - 5 & 99- 502.
- KATIYAR S., PANT R. (1987) Source of cellulase in various gut segments of Eri-silkworm larvae (*Philosamia ricini* Hutt). Indian J. Seric 24: 90-92.

- KORN-WENDISH F., KUTZNER H.J (1992) The family streptomycetaceae, In: prokaryotes. A handbook of the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, application. 2nd Edn., Berlin, Heideberg. New York, 921-995.
- MOHANRAJ. P (2007) Association of gut microflora and their influence on growth and development of silkworm, *Bombyx mori* L. Department of Sericulture, centre for plant protection studies, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. Thesis, 1 – 100.
- MOHANRAJ P., SUBRAMANIAN S., MUTHUSWAMI M. (2009) Survey of gut microflora of select Indian multivoltine and bivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia. 49(2): 201-209
- MURPHY K. M., TEAKLE D. S., MACRAE I. C. (1994) Kinetics of colonization of adult Queensland fruit flies (*Bactrocera tryoni*) by dinitrogen-fixing alimentary tract bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2508-2517.
- MURTHY M. R. V., SHANKARAPPA B. S., SREENIVASAYA M. (1952) Influence of antibiotics on the growth of the silkworm *Bombyx mori*. Current Science. 10: 113-119.
- MURTHY, M. R. V., SHANKARANARAYANA D., SREENIVASAYA M. (1954) Role of chloromycetin in the nutrition of the silkworm *Bombyx mori* Linn. J. Sci. Industr. Res. 13: 331-335.
- NEELU NANGIA V., ASHOK KUMAR B., NAGESHCHANDRA K. (1999) Gut microflora of healthy mulberry silkworm, National Symposium of Trends in Sericulture, Dept. of Sericulture, UAS, Bangalore, 247-244.
- RADHA N. V., NATARAJAN T., MUTHUKRISHNAN T. S., OBLISAMI S. (1981) Effect of antibiotics on the growth and productivity of mulberry silkworm. Proceedings of sericulture symposium and seminar, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, 173- 177.
- RADHAKRISHNA RAI., DEVAIAH M. C. (1988) Effect of antibiotics on the incidence of diseases in silkworm *Bombyx mori* L. Proceedings of International Congress Tropical Sericulture practice, Bangalore. Feb, 18-23.
- ROBERT P.H. (1967) Experimental Microbiology Laboratory Guide. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 51.
- SAHIN N. (2003) Investigation of antimicrobial activity of some streptomyces isolates. Turk. J. biol. 27, 79-84.
- SASIDHARAN R., SAMSONANDAM T. O., GOVINDAIAH V. (1993) Mini Review. The physiology of locust phase polymorphism: an update. J. Insect Physiol. 44, 365-377.
- SHYAMALA M. B., BHAT J. V. (1959) Chloromycetin in the nutrition of the silkworm *Bombyx mori* L. - Influence of the degradation products in nutrition. Indian Inst. Sci., Golden Jubilee Res., pp., 222-230.
- SHYAMALA M. B., SHARADA K., BHAT M. G., BHAT J. V. (1960) Chloromycetin in the nutrition of silkworm *Bombyx mori* L. Influence on digestion and utilization of protein, fat and minerals. Indian journal of Sericulture. 20: 273-280.
- SINGH K.K., CHAUHAN R.M., PANDE A.B., GOKHALE S.B., HEGDE N.G. (). Effect of use of *Lactobacillus plantarum* as a probiotics to improve cocoon production of mulberry silkworm, *Bombyx mori* (L.). Journal of Basic and Applied Science, June-November, 1-8.
- STEINHAUS A. E. (1963) Insect Microbiology. Matner Publishing Company. New York and London, 31.
- TAKAHASHI K. (1955) Nutrition role in silkworm *Bombyx mori*. J. agri. chem., Soc Japan. 29: 711-715.
- TAYADE D. S., JAWALE M. D., UNCHEGOANKAR P. K., (1988) *Bacillus thuringiensis* populations naturally occurring on mulberry leaves: A possible source of the populations associated with silkworm-rearing insectaries. J. Appl. Bacteriol. 80: 56-64.
- VERMA S. K., KUGHWAHA K. S. (1971) Effect of four tetracycline antibiotics on the growth of silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Agric. Sci. 41: 1009-1017.
- WATVE M.G., TICKOO R., JOG M.M., BHOLE B.D. (2001) How many antibiotics are produced by the genus *streptomyces*. Arch microbial. 176: 386-390.

INFLUENCE DES ANTIBIOTIQUES ET DES PROBIOTIQUES SUR LA MICROFLORE ENDOGENE DE L'INTESTIN CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI*

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

Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore – 641 003, Inde. entosubra@yahoo.co.in

*On a évalué des antibiotiques synthétiques, c'est-à-dire la streptomycine, la tétracycline, l'érythromycine, la lévofloxacine et la ciprofloxacine par rapport à leur effet sur la charge en microflores de l'intestin de deux lignées indiennes du ver à soie, **Bombyx mori**, à savoir Pure Mysore et CSR2. L'administration d'antibiotiques s'avère provoquer l'inhibition de la population de la microflores de l'intestin *in vivo* avec une diminution de 49,62 à 61,06 % des populations de bactéries de l'intestin chez la race PM et une diminution de 54,61 à 57,93 % chez la race CSR2. Les traitements antibiotiques ont aussi entraîné une baisse de la population d'actinomycètes endogènes de l'intestin de l'ordre de 36,36 à 50 % chez les deux lignées de vers à soie évaluées.*

*Compte tenu de la sensibilité de la flore de l'intestin aux antibiotiques, des études ont été réalisées pour explorer l'influence de l'application probiotique d'actinomycètes tirés de l'intestin du ver à soie, **Streptomyces noursei** à raison de 10^7 g⁻¹ sur la croissance et le développement du ver à soie. Les applications probiotiques de **S. noursei** ont entraîné l'augmentation de la population d'actinomycètes endogène de 123,08 et 141,86 % respectivement chez PM et CSR2 avec l'amélioration des paramètres économiques tels que le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse chez les deux lignées. Dans le cas de PM, l'application de probiotiques entraîne une augmentation de 27,78 % du poids larvaire, une augmentation de 4,76 % du poids du cocon, une augmentation de 8,33 % du poids de la coque et une augmentation de 6,3 % de la richesse soyeuse. Pour la race CSR2, l'application de probiotiques entraîne une augmentation de respectivement 26,34 ; 6,06 et 10,71 % des poids de la larve, du cocon et de la coque et une augmentation de 5,66 % de la richesse soyeuse. L'étude met en évidence le potentiel des probiotiques pour améliorer les paramètres économiques des lignées de vers à soie.*

INTRODUCTION

La microbiologie de l'intestin des insectes a reçu énormément d'attention récemment avec la caractérisation de nouvelles microflore chez plusieurs ordres d'insectes. Il existe beaucoup de documents sur le rôle bénéfique des microbiotes de l'intestin chez les insectes comme les termites et les Scarabéoïdes tandis que, par le passé, on a accordé peu d'attention à l'intestin des insectes Lépidoptères y compris des vers à soie. Cependant, des études récentes ont mis en lumière le rôle multiple de la microflores de l'intestin chez les lépidoptères dans la production semiochimique, la détoxification des métabolites, la résistance à la colonisation, tout en apportant des nutriments essentiels à la croissance et au développement des insectes, en agissant comme des « courtiers microbiens » (Dillon et Dillon, 2004).

Le contenu intestinal du ver à soie *B. mori* était considéré auparavant comme stérile et on a attribué cela à la nature alcaline élevée (pH 9 à 10) de l'intestin du ver à soie (Itaya, 1953). Cependant, des

* Auteur auquel adresser la correspondance.

études ultérieures ont illustré la riche diversité de la microflore de l'intestin du ver à soie, avec Ghosh (1962), qui a décrit les quatre espèces de *Micrococcus* à partir des intestins de lignées indiennes du ver à soie ; Brooks, 1963 qui a répertorié la flore bactérienne des intestins de plusieurs insectes y compris du ver à soie, Steinhaus (1963 et 1967) qui a décrit des isolats bactériens de larves de ver à soie saines et Mohanraj, 2009 qui a caractérisé la diversité de la microflore de l'intestin des lignées de ver à soie indiennes supérieures.

Les études par Kalpana et coll (1995) ont mis en évidence les changements quantitatifs et qualitatifs de la flore bactérienne de l'intestin pendant différents stades chez les larves de ver à soie, puisque les bactéries de l'intestin jouent un rôle important dans la digestion du matériel alimentaire ingéré. On a constaté que les bactéries qui habitent l'intestin du ver à soie élaborent l'amylase, la caséinase, la gélatinase, la lipase et l'uréase. Bien que les feuilles de mûrier peuvent satisfaire les principaux besoins en nutriments des larves de ver à soie, certains des nutriments sont fournis par les bactéries de l'intestin. La synthèse de la cobalamine ne peut être réalisée que par les actinomycètes dans le tube digestif (Bosticco et Arnaudo, 1955)

On a constaté que la microflore du canal alimentaire est très sensible aux antibiotiques. L'élimination des spirochètes par les antibiotiques entraîne la baisse de la survie chez les termites (Eutic et coll., 1970). La streptomycine et la kanomycine s'avèrent retirer des symbiotes qui sont utiles à la reproduction chez les mouches téphritidés (Chinarajan et coll., 1972). Chez le perforateur de la tige du manguier, l'élimination des micro-organismes avec un mélange d'antibiotiques tels que la tétracycline, la streptomycine et le chloramphénicol entraîne une diminution de poids et une réduction de l'activité de l'amylase et de l'invertase (Surulivelu, 1977). Quand on traite le cafard avec du métranzidazole, la microflore anaérobique présente dans l'appareil intestinal de l'insecte est complètement éliminée (Brake et coll., 1978 ; Gijzen et coll., 1991), ce qui entraîne une mauvaise croissance et une diminution de la capacité reproductrice. De plus, le médicament diminue l'activité enzymatique dans l'intestin postérieur et dans l'intestin moyen (Cruden et Markovetz, 1979), ainsi que la production de méthane (Gijzen et coll., 1991).

Les antibiotiques sont largement utilisés dans l'industrie séricicole comme composants des désinfectants de litière et en tant qu'application thérapeutique contre les maladies bactériennes. Compte tenu du rôle bénéfique que joue la microflore de l'intestin et de la sensibilité des microbes aux antibiotiques, cette étude a été entreprise pour évaluer l'influence intrinsèque des antibiotiques sur la microflore de l'intestin de lignées de vers à soie indiennes supérieures et pour explorer l'application de probiotiques de *S. noursei* (un actinomycète isolé sur des lignées de vers à soie indiennes) sur la croissance et sur le développement du ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

Maintien des lignées du ver à soie :

On obtient des pontes saines de races pures du ver à soie, c'est-à-dire Pure Mysore (polyvoltine) et CSR2 (bivoltine) auprès du *Central Sericultural Germplasm Resources Centre* de Hosur et du *Central Sericultural Research and Training Institute*, de Mysore. On nourrit les lignées de ver à soie avec des feuilles de mûrier saines de la variété V1. On élève les lignées de ver à soie dans une pièce d'élevage dans des conditions hygiéniques avec une température (25–28° C) et une humidité relative (60-70 %) optimales. On lave soigneusement les feuilles de mûrier sous l'eau du robinet, on les sèche à l'ombre et on stérilise leur surface sous une lumière UV avant d'en nourrir les vers à soie. On procède à une alimentation avec des feuilles 3 à 4 fois par jour après l'éclosion.

Effet des antibiotiques sur le ver à soie :

On évalue l'influence des antibiotiques couramment utilisés comme la streptomycine, l'érythromycine, la tétracycline, la lévofloxacine et la ciprofloxacine sur la microflore de l'intestin. On

prépare des solutions antibiotiques dans de l'eau distillée stérile à raison de 250 µg / l et on les vaporise sur les feuilles de mûrier en utilisant un pulvérisateur manuel. On cueille des feuilles de mûrier fraîches, on les lave soigneusement, on stérilise leur surface sous une lumière UV, on les plonge dans une solution antibiotique et on les sèche à l'ombre pendant un certain moment. Pour chaque lot de larves, on donne les feuilles trempées dans les antibiotiques comme premier repas une fois pendant les 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} âges.

Isolement et énumération de la microflore de l'intestin :

On sélectionne des larves saines de deux jours du 5^{ème} âge et on les affame pendant 4 à 6 heures pour l'isolement des bactéries et des actinomycètes de l'intestin. On stérilise la surface des larves avec de l'alcool et on procède à la dissection dans des conditions aseptisées. Après l'extraction, on homogénéise les intestins dans un tampon de phosphate de potassium à 0,1 M (pH 7,0), on les lave trois fois avec un tampon phosphate sans glutaraldéhyde, on les transfère dans des flacons et on les stocke à 5° C, jusqu'à une utilisation ultérieure (Breznak et Pankratz, 1977). On suit la technique d'étalement sur plaques (Robert, 1967) pour énumérer la population microbienne de l'intestin. On adopte des techniques dépendant de la culture en utilisant des milieux agar agar, Ken knights et Crawford pour l'isolement et l'énumération des bactéries et des actinomycètes de l'intestin. On procède à l'identification générique des actinomycètes en utilisant les caractéristiques morphologiques / biochimiques [obligance de l'identification : Indian Microbial Type Culture Collection Centre and Gene Bank, Chandihar, Inde].

Préparation des filtrats de culture de *S. noursei* :

On inocule une culture d'actinomycètes de 24 h à une concentration de 1 % dans un bouillon d'agar agar et on la conserve dans une secoueuse pour l'incuber pendant 7 jours. On enregistre la croissance des actinomycètes dans les bouillons de cultures en observant leur turbidité. On centrifuge les bouillons de cultures des actinomycètes à 10 000 tpm pendant 10 min. et on jette le surnageant. On lave à nouveau les culots avec un tampon phosphate alcalin pendant 10 min. pour maintenir le pH. On resuspend les culots lavés dans de l'eau stérile (Sahin, 2003).

Application probiotique d'actinomycètes :

Les filtrats vivants de la culture de *S. noursei* préparés d'après la description ci-dessus sont administrés en probiotiques aux larves de ver à soie en complément alimentaire. On trempe des feuilles de mûrier venant d'être cueillies dans des filtrats de culture de *S. noursei* à raison de 10⁷ cfu g⁻¹ et on sèche les feuilles à l'ombre pendant un certain temps. On donne à chaque lot de larves (lignées PM et CSR2) des feuilles traitées avec des actinomycètes une fois au premier repas du 5^{ème} âge. On enregistre les paramètres de croissance et de développement du ver à soie, c'est-à-dire le poids de la larve, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse.

Les probiotiques par rapport aux microbiotes de l'intestin et aux paramètres économiques du ver à soie :

On procède à l'énumération des actinomycètes pendant le 5^{ème} âge pour évaluer l'influence des probiotiques sur la microflore endogène de l'intestin. On évalue le rôle des probiotiques sur la croissance et sur le développement du ver à soie, en mesurant les paramètres économiques du ver à soie, c'est-à-dire le poids de la larve, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse, lors de l'ingestion de feuilles de mûrier traitées avec des probiotiques.

RESULTATS

Microflore comparative de l'intestin chez les races pures du ver à soie :

On identifie la microflore normale de l'intestin chez les larves saines de races pures, c'est-à-dire Pure Mysore et CSR2 (Tableau I). L'observation des données suggère qu'il y a une différence frappante de la charge en microflore de l'intestin entre les races pures polyvoltines et bivoltines. L'intestin de CSR2 enregistre une charge significativement plus élevée de bactéries ($2,84 \times 10^7$ cfu g^{-1}) et d'actinomycètes ($4,3 \times 10^2$ cfu g^{-1}) que celui de Pure Mysore.

Effet des antibiotiques sur la microflore endogène de l'intestin :

On administre des solutions d'antibiotiques une fois pendant le troisième, le quatrième et le cinquième âge à la microflore endogène de l'intestin qui a été identifiée chez les larves de ver à soie. La charge microbienne de l'intestin significativement inférieure à celle du témoin non traité montre que les antibiotiques utilisés dans cette étude sont tous aussi nocifs à la microflore endogène de l'intestin (Tableau II).

Le traitement antibiotique entraîne une diminution de 49,62 à 61,06 % de la flore bactérienne de l'intestin chez la lignée PM, tandis qu'on remarque une diminution de 54,61 à 57,93 % de la charge bactérienne de l'intestin chez CSR2. En ce qui concerne les actinomycètes, on remarque une diminution de 36,36 à 50 % de la population en raison du traitement antibiotique chez la race PM, tandis qu'on enregistre une diminution de 38 à 50 % des actinomycètes chez la race CSR2.

Les probiotiques par rapport aux bactéries endogènes de l'intestin :

Pour évaluer l'influence de l'application de probiotiques de *S. noursei* sur la population d'actinomycètes autochtones de l'intestin de PM et de CSR2, on administre les cultures vivantes de *S. noursei* provenant du ver à soie à raison de 10^7 g^{-1} pendant le premier repas des larves de ver à soie du 5^{ème} âge. On suit périodiquement la population endogène d'actinomycètes pendant 4 jours, toutes les 24 heures. L'observation des données présentées dans le Tableau III montre l'augmentation progressive de la population d'actinomycètes du premier au quatrième jour d'application. On enregistre une augmentation respectivement de 123,08 et 141,86 % des actinomycètes endogènes chez les races PM et CSR2, le 4^{ème} jour après l'application de probiotiques.

Influence sur la croissance et sur le développement :

Les données présentées dans le Tableau IV révèlent que l'application de probiotiques *S. noursei* entraîne une augmentation significative du poids larvaire, du poids du cocon, du poids de la coque et de la richesse soyeuse chez les deux lignées de ver à soie, PM et CSR2. Dans le cas de la race PM, l'application de probiotiques entraîne une augmentation du poids larvaire de 27,78 %, une augmentation du poids du cocon de 4,76 %, une augmentation du poids de la coque de 8,33 % et une augmentation de la richesse soyeuse de 6,3 %. Pour la race CSR2, l'application probiotique entraîne une augmentation respectivement de 26,34 ; de 6,06 ; et de 10,71 % du poids de la larve, du cocon et de la coque et une augmentation de la richesse soyeuse d'environ 5,66 %.

DISCUSSION

Description de la microflore de l'intestin des races pures du ver à soie :

L'énumération de la microflore de l'intestin des races pures du ver à soie révèle que la lignée bivoltine, CSR2 enregistre une charge significativement plus élevée en bactéries ($2,84 \times 10^7$ cfu g^{-1}) et en actinomycètes ($4,3 \times 10^2$ cfu g^{-1}) par comparaison à la lignée polyvoltine, Pure Mysore. Les résultats sont conformes avec les résultats de Neelu Nangia et coll., (1999) qui ont signalé que la

lignée bivoltine NB4D2 abrite une charge plus importante en bactéries ($16,5 \times 10^4$ cfu g⁻¹) que la lignée Pure Mysore et que le croisement, PM × NB4d2. Leurs études ont aussi mis en évidence le fait que les bactéries sont la microflore dominante dans l'intestin des lignées de ver à soie. La charge bactérienne plus élevée dans l'intestin de la lignée bivoltine pourrait être responsable de la taille robuste et du potentiel alimentaire des lignées bivoltines en général et de la présence d'une niche plus importante pour la colonisation.

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

Effet des antibiotiques sur la microflore de l'intestin :

Les résultats expérimentaux présentés dans le Tableau II révèlent que les cinq antibiotiques synthétiques sont tous aussi néfastes à la microflore endogène de l'intestin. Les traitements antibiotiques ont entraîné une diminution de 49,62 à 61,06 % de la population de bactéries de l'intestin chez la race PM, tandis que la diminution en % chez la race CSR2 est de l'ordre de 54,61 à 57,93 %. La population d'actinomycètes baisse aussi chez les deux races à cause du traitement antibiotique.

Les antibiotiques sont largement utilisés dans l'industrie séricicole pour le maintien de vers sains en bonne santé et surtout pour lutter contre la maladie de la flacherie. Plusieurs rapports ont souligné les aspects bénéfiques des antibiotiques sur la croissance et sur le développement du ver à soie (Murthy et coll., (1952) ; Murthy et coll., 1954 ; Shyamala et Bhat (1959) ; Coates (1969) ; Verma et Kughwaha (1971) Radha et coll., (1981) ; Radhakrishnarai et Devaiah (1988) ; Tayade et coll., (1988) ; Sasiharan et coll., (1993) et Dechu et coll., (1997). On attribue l'effet bénéfique des antibiotiques à leur rôle dans l'utilisation efficace de l'azote (7 %), des constituants minéraux (28 %) et des graisses brutes (20 %) chez les larves de ver à soie.

Contrairement à ces rapports, certaines des études ont souligné les effets négatifs des antibiotiques sur les insectes. On a signalé que l'application d'antibiotiques provoque la baisse de la microflore de l'intestin chez plusieurs insectes (Jarosz, 1979 ; Dillon et Chamley, 1986 ; Murphy et coll., 1994). On a signalé que l'administration d'antibiotiques a un effet négatif sur la microflore intestinale des vers à soie. Shyamala et coll., (1960) ont signalé que l'administration de chloromycétine entraîne une diminution générale de la population bactérienne de l'intestin chez les vers à soie. On a observé que la population de bactéries endogènes de l'intestin, c'est-à-dire *Micrococci*, *Streptococci* et *Flavobacteria* diminue en nombre avec les augmentations concomitantes du nombre de coliformes, suite à l'administration de chloromycétine (Shyamala et coll. 1960). Parfois, l'application démesurée d'antibiotiques entraîne l'augmentation de la mycose comme chez *Galleria mellonella* (Jarosz, 1979). Les études récentes sur la physiologie de la microflore de l'intestin des insectes ont souligné plusieurs effets bénéfiques comme la résistance à la colonisation, la production de substances chimiques de défense et de métabolites secondaires et la promotion de la croissance et du développement généraux des insectes hôtes (Dillon, 2004). Bien que la plupart des antibiotiques commerciaux soient tirés des actinomycètes, ils ne peuvent pas complètement égaler les aspects bénéfiques de la microflore vivante de l'intestin. Les résultats de cette étude sont donc en accord avec certains des travaux précédents selon lesquels il faut faire attention dans l'utilisation des antibiotiques chez le ver à soie, car cela provoque une diminution de la population de la microflore bénéfique de l'intestin, quand on les applique en trop grande quantité.

Le terme « probiotiques » se réfère à l'administration de microbes bénéfiques vivants. L'utilisation de probiotiques est plus courante dans les sciences médicales humaines et vétérinaires. On utilise des formulations probiotiques commerciales pour les êtres humains (Brigidi et coll., 2001), pour l'aquaculture (Douillet et Langdon, 1994), tandis qu'il n'existe pas de rapports sur l'existence de formulations de probiotiques spécifiquement conçues pour les vers à soie.

La souche *S. noursei* utilisée dans cette étude a été à l'origine utilisée et purifiée chez une lignée de ver à soie indienne. Les résultats présentés dans le Tableau III montrent clairement l'influence positive des applications probiotiques de *S. noursei* à raison de 10^7 g^{-1} sur la population d'actinomycètes endogènes. Comme c'est un isolat natif, il colonise plus facilement l'intestin des lignées de ver à soie 24 à 48 h après l'application. Singh et coll., (1999) ont observé l'amélioration du poids de la larve, du poids du cocon, du poids de la coque et du pourcentage de nymphose chez les larves de ver à soie, quand on les nourrit avec des feuilles de mûrier traitées avec une formulation probiotique commerciale contenant du *Lactobacillus plantarum*. Comme la microflore qui colonise l'intestin du ver à soie est unique en raison de son adaptabilité spéciale au régime de pH élevé de l'intestin du ver à soie, il faudrait étudier si *L. plantarum* peut coloniser l'intestin du ver à soie ainsi que ses interactions physiologiques avec la microflore endogène de l'intestin du ver à soie, *B. mori*.

Les données présentées dans le Tableau IV montrent que l'application de probiotiques de *S. noursei* exerce une influence positive sur les paramètres économiques du ver à soie, avec une augmentation significative des poids de la larve, du cocon et de la coque et de la richesse soyeuse. Comme le gain de poids maximum chez les larves de ver à soie se produit pendant le cinquième âge avec une rotation plus élevée des nutriments, l'application de probiotiques pendant le premier repas du 5^{ème} âge pourrait avoir facilité les meilleures digestion et assimilation des nutriments. Dillon et Dillon (2004) ont considéré les microbiotes de l'intestin comme une source métabolique appréciable pour les insectes. Kalpana et coll., 1994 ont signalé que la plupart des isolats bactériens de l'intestin du croisement du ver à soie PM × NB4D2 sont des producteurs de protéase, suivis par des diviseurs des lipides et des polysaccharides. Katiyar et Pant (1987) ont observé que la présence abondante de microorganismes à la fois dans les zones de l'intestin moyen et postérieur du ver à soie eri, *Philosamia ricini* est responsable de la sécrétion de cellulose et en tant que telle contribue à la digestion des feuilles de ricin à la teneur élevée en cellulose. Par le passé, des chercheurs sur la nutrition du ver à soie se sont interrogés sur le rôle des actinomycètes dans l'aide à la synthèse de la vitamine B12 chez *B. mori*. Le fait que l'administration d'antibiotiques entraîne la diminution radicale de la population d'actinomycètes de l'intestin suggère que les actinomycètes sont métaboliquement actifs dans l'intestin du ver à soie. Comme la souche *S. noursei* utilisée dans cette étude est tirée à l'origine des intestins de lignées de ver à soie Indiennes (Mohanraj, 2007), elle a une valeur de survie plus importante pour coloniser l'intestin des lignées indiennes et l'application probiotique d'actinomycètes indigènes pourrait avoir facilité la meilleure rotation des nutriments, ce qui a permis une amélioration des paramètres économiques du ver à soie.

Il y a beaucoup de documents sur les aspects de promotion de la croissance du genre *Streptomyces*. Par la production de métabolites secondaires et en agissant comme interrupteur métabolique, ils synthétisent les nutriments, les vitamines et les hormones de croissance essentiels pour répondre aux besoins des hôtes. En dehors de la production d'antibiotiques, on les utilise aussi pour s'opposer aux pathogènes qui envahissent l'intestin des animaux (Watve et coll., 2001 ; Korn-wendish et coll., Goodfellow et coll., 1988).

Les bactéries gram-positives du genre *Streptomyces* sont les principaux producteurs de polyketides macrolides dont beaucoup sont appliqués en tant que produits pharmaceutiques, comme l'érythromycine (antibactérien), la nystatine (antifongique), l'ivermectine (antiparasitaire), la rapamycine (immunosuppresseur) et la daunorubicine (antitumeur) et la génétique et la biochimie de la biosynthèse des polyketides chez ces organismes sont assez bien caractérisées (Hopwood, 1997). L'analyse fonctionnelle de *S. noursei* isolée sur des lignées de ver à soie révèle son potentiel

antibiotique contre un ensemble de bactéries gram positives et gram négatives et elle s'avère inhiber la germination des conidies des entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae in vitro* (Mohanraj, 2007). On peut donc supposer que l'application probiotique de *S. noursei* avec ses fonctions biologiques multiples, exerce une influence positive sur la croissance et sur le développement généraux des larves de ver à soie.

CONCLUSION

Les antibiotiques sont largement utilisés dans l'industrie séricicole comme composants des milieux artificiels pour l'élevage du ver à soie ou comme ingrédients dans la formulation de désinfectants de litière, en plus de leur utilité pour lutter contre la maladie de la flacherie bactérienne du ver à soie. La diminution radicale de microbes endogènes de l'intestin suite à des traitements antibiotiques montre que l'utilisation d'antibiotiques dans l'élevage du ver à soie doit être rigoureuse. L'application de probiotiques comme nutraceutiques a pris de l'ampleur dans les médicaments humains, dans l'aviculture et dans l'aquaculture, il est grand temps d'explorer l'utilisation de probiotiques pour augmenter la productivité de la sériciculture. Comme les microbes autochtones colonisent plus facilement l'environnement de l'intestin, les formulations de probiotiques à partir de la microflore bénéfique de l'intestin du ver à soie en font des candidats idéaux pour améliorer les paramètres de croissance et de développement du ver à soie. Les résultats de cette étude prouvent l'utilité des applications probiotiques de *S. noursei* pour augmenter les paramètres économiques du ver à soie. L'identification et la caractérisation de la microflore bénéfique de l'intestin chez les lignées de ver à soie permettraient d'enrichir les formulations probiotiques pour les utiliser dans l'industrie séricicole.

SERICIN OF *BOMBYX MORI* AS A REDUCING AND CAPPING AGENT IN THE PREPARATION OF SILVER NANOPARTICLES

S. NIVEDITA, PRAKASH N. BHAT & SUBRATA ROY

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout, Bangalore, – 560 068, India.. Email: nive_cstri@rediffmail.com

*A simple method of preparation of silver nanoparticles from silver nitrate using only the silk protein, sericin of *Bombyx mori* is presented. Sericin acts as the reducing and stabilizing agent. The average size of the nanoparticles is 25nm.*

Keywords: Sericin, Silver nanoparticles, UV-vis spectrum, reduction process.

INTRODUCTION

Nanoparticles of silver (AgNP) have unique mechanical, electrical and anti-microbial properties and several methods have been tried for their synthesis. The chemical method involves reduction of the silver salt, usually AgNO₃, in the presence of a surfactant. (Gulrajani, 2006). Glucose and Sodium hydroxide, Sodium hyposulphite, dextrose, Polyvinyl alcohol (PVA), etc have been used as the reducing agent. The reduced metal atoms are captured in the early stage of the reaction by the surfactants (or capping or stabilizing agents) which keep them floated in the solvent. PVP, gelatin, poly glutamic acid, mixtures of different agents and PVA have been tried as stabilizing agents. It has been reported that silver nanocolloid was prepared using silk fibroin solution as reducing and capping agent, the average size of the silver cores being 10nm (Chen *et al.*, 2003).

In this paper we present a simple method of preparation of stable silver nanocolloid from silver nitrate using only the natural silk protein, sericin.

MATERIALS AND METHODS

Silver Nitrate Pure, the precursor for silver was purchased from Merck. Bivoltine cocoons of CSR2 × CSR4 race were collected after hot air stifling. De-ionized water was used for preparation of silver nitrate solution.

UV-vis measurements were made on Varian Cary 50 Bio UV-visible-NIR Spectrophotometer in a standard optical cell of 10mm path-length. Scanning Electron Microscope (SEM) photographs were taken on Nova Nano SEM 600 (FEI Company) and Transmission Electron Microscope (TEM) photographs were taken on JEL 2000FX21 Model II HRTEM – Analytical. Ph was estimated using Merck Ph indicator papers of specific range 6.5 to 9 and 5.0 to 7.5.

Preparation method:

(i) Preparation of sericin colloid:

The cocoons were deflossed and cut into pieces after removing the pupae. The cut shells were thoroughly cleaned in water. A 0.2 % solution of sericin was prepared by boiling 2g of the shells in 200ml of purified (Millipore) water for 20 min. After cooling, the solution was filtered using 5A grade

paper which retains particulates and gelatinous precipitates ($>10 \mu\text{m}$). This was sonicated at room temperature for 20 min. This solution had a pH of 6.5 and gave an absorption peak at 275nm. (Fig. 1-a).

(ii) Preparation of Silver Nitrate solution :

A 10^{-3} M solution of silver nitrate was prepared and sonicated for 20 min. at room temperature. The UV-vis spectra of this solution showed a peak at 302nm (Fig. 1-b)

(iii) Preparation of AgNP containing sericin colloid:

Silver nitrate solution heated to 40°C was added to equal volume of sericin solution heated to 60°C and mixed thoroughly. The pH of this mixture was adjusted to 8.5 by adding one or two drops of 5% NaOH solution. The isoelectric point (point of minimum solubility) of sericin is around pH 4.5-4.7 and therefore addition of NaOH was necessary, to increase solubility.

The mixture was allowed to stand for 48 hours. The colour of the solution gradually turned to a deep yellow, indicating the formation of silver nanoparticles in the colloidal solution. The UV-vis spectra of the stable solution showed a peak at 415.9 nm, (Fig. 1-c) which indicated the presence of AgNP. The pH of this solution was found to be 7. The colour of the colloidal solution and the surface plasmon band remained constant for a period of 4 weeks, with only a slight shift in the spectra (Fig 1-d).

We have observed that NaOH also acts as a catalyst. The reaction progresses at a very slow rate without the addition of NaOH, resulting in larger particles with wider size distribution.

Characterization :

The SEM and TEM (Figs.2 & 3) indicate the average size of the AgNP is around 25 nm.

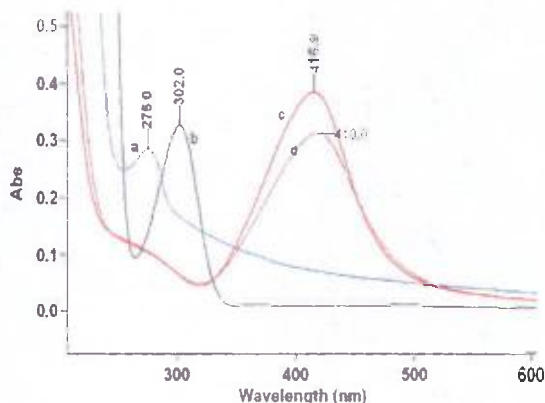


Fig. 1. UV-vis spectra of (a) sericin, (b) silver nitrate solution, (c) freshly prepared silver nanoparticles (d) silver nanoparticles after 4 weeks.[spectra taken after dilution]

Fig. 1. Spectre UV-vis de la sérine (a), de la solution de nitrate d'argent (b), des nanoparticules d'argent venant d'être préparées (c), des nanoparticules d'argent au bout de 4 semaines (d) (spectre pris après la dilution).

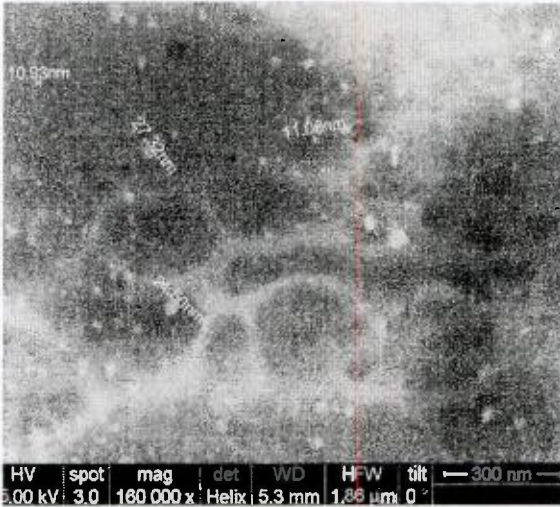


Fig 2. SEM photograph of silver nanoparticles.

Fig. 2. Photographie SEM des nanoparticules d'argent.

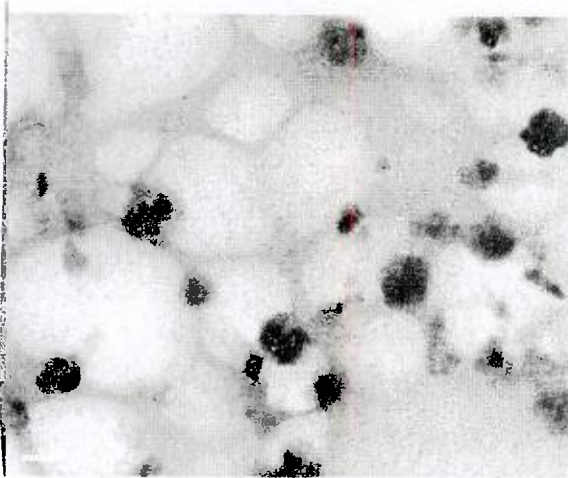


Fig. 3. TEM photograph of silver nanoparticles.

Fig. 3. Photographie TEM des nanoparticules d'argent.

RESULTS AND DISCUSSION

The apparent reducing powers of some of the amino acids in sericin are given in Table I (Hewitt, 1938). It has been reported that when heated, tyrosine has approximately the same reducing activity as dextrose, i.e., 100 g.

Thus the 0.2 % sericin contains sufficient quantities of amino acid residues required to reduce all the AgNO_3 to Ag^+ ions in the heated solution. The silver ions are again reduced to Ag^0 atoms and a small number of these nearby atoms aggregate to form AgNP, under ideal conditions.

Table I. Apparent reducing powers of some amino acids.*Tableau I. Pouvoirs réducteurs apparents de certains acides aminés.*

Amino acid	Reducing power
<i>Acide aminé</i>	<i>Pouvoir réducteur</i>
Glycine	0
Cystine	1
Tryptophan	60
Tyrosine	45

Figures quoted are in terms of glucose (g) per 100g protein / *Les chiffres apparaissent en termes de glucose (g) pour 100 g de protéines.*

Further, it can be seen from Fig.1 that the UV absorption peak of sericin is at 275nm which corresponds to one of the two peaks of tyrosine, viz. 195 and 275. Whereas, this peak is absent in the UV spectra of the AgNP colloidal solution, indicating that the tyrosine of the sericin has been used up in the reduction process. This is also in agreement with the findings of Chen *et al.* (2003). The reason for the decrease in pH of the colloidal solution from 8.5 to 7 is due to the disappearance of the alkali (NaOH) from the solution as sericin dissolves in the alkaline medium, that is, the pH value diminishes.(Kaneko, 1934).

CONCLUSION

Sericin, extracted by a simple procedure from the cocoons of *Bombyx mori* silkworms has been used effectively in the preparation of silver nanoparticles from silver nitrate by a convenient method. Sericin has the capacity to function as reducing as well as capping / stabilizing agent. The stability of the solution has been confirmed for a period of 4 weeks.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful to Prof. G.U. Kulkarni, Chairman, C&PMU, Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research for providing SEM photographs. We are also thankful to Ms. Manjula, Scientific Assistant, Department of Physics, IISc, Bangalore for providing TEM photographs of the sample.

REFERENCES

- GULRAJANI M.L., (2006). Nano finishes, Indian Journal of Fibre and Textile Research, 31,187-201.
 CHEN W., WU W., CHEN H., SHEN Z. (2003). Preparation and characterization of noble metal nanocolloids by silk fibroin *in situ* reduction, Science in China (Series B), 46(4),330-338.
 HE WITT L. F. (1938). The polysaccharide content and reducing power of proteins and of their digest products, Biochem J. 32(9),1554-1560.
 KANEKO H (1934). The colloidal behaviour of sericin. III. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 9(7), 283-302.

LA SERICINE DE *BOMBYX MORI* COMME AGENT REDUCTEUR ET ENROBANT DANS LA PREPARATION DE NANOPARTICULES D'ARGENT

S. NIVEDITA, PRAKASH N. BHAT & SUBRATA ROY

Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout,
Bangalore – 560 068, Inde. Email : nive_cstri@rediffmail.com

*Nous présentons une méthode simple de préparation de nanoparticules d'argent à partir de nitrate d'argent en n'utilisant que la protéine de la soie, la séricine de *Bombyx mori*. La séricine agit comme agent réducteur et agent de stabilisation. La taille moyenne des nanoparticules est de 25 nm.*

INTRODUCTION

Les nanoparticules d'argent (AgNP) ont des propriétés mécanique, électrique et anti-microbienne uniques et plusieurs méthodes ont été essayées pour les synthétiser. La méthode chimique implique la réduction du sel d'argent, en général AgNO₃, en la présence d'un tensioactif (Gulrajani, 2006). Le glucose et l'hydroxyde de sodium, l'hyposulfite de sodium, le dextrose, l'alcool de polyvinyle (PVA) ont été utilisés comme agents réducteurs. Les atomes de métal réduits sont capturés pendant le stade initial de réaction par les tensioactifs (ou agents enrobants ou stabilisants), ce qui les laisse flotter dans le solvant. On a essayé le PVP la gélatine, l'acide polyglutamique, les mélanges de différents agents et le PVA comme agents stabilisateurs. On a rapporté qu'un nanocolloïde d'argent a été préparé en utilisant une solution de fibroïne de soie comme agent réducteur et enrobant, la taille moyenne des noyaux d'argent étant de 10nm (Chen et coll., 2003).

Dans cet article, nous présentons une méthode simple de préparation de nanocolloïde d'argent stable à partir de nitrate d'argent en n'utilisant que la protéine naturelle de la soie, la séricine.

MATERIELS ET METHODES

On achète le nitrate d'argent pur, le précurseur de l'argent chez Merck. On recueille des cocons bivoltins de la race CSR2 × CSR4 après l'étouffage à l'air chaud. On utilise de l'eau déionisée pour la préparation de la solution de nitrate d'argent.

On procède aux mesures UV-vis sur un Spectrophotomètre Varian Cary 50 Bio UV-Visible-NIR avec une cellule optique standard au trajet optique de 10 mm. On prend les photographies au microscope électronique à balayage (SEM) sur un Nova Nano SEM 600 (Société Fei) et on prend les photographies au microscope électronique par transmission (TEM) sur un JEL 2000 FX21 Modèle II HRTEM – Analytique. On estime le pH en utilisant les papiers indicateurs de pH de Merck dans la fourchette spécifique de 6,5 à 9 et de 5,0 à 7,5.

Méthode de préparation :

(i) Préparation du colloïde de séricine :

On déblaze les cocons et on les coupe en morceaux après avoir retiré les chrysalides. On nettoie soigneusement les coques coupées dans de l'eau. On prépare une solution de séricine à 0,2 % en faisant bouillir 2 g de coques dans 200 ml d'eau purifiée (Millipore) pendant 20min. Après

refroidissement, on filtre la solution en utilisant du papier de qualité 5A, qui retient les particules et les précipités gélatineux ($> 10 \mu\text{m}$). On la traite aux ultrasons à température ambiante pendant 20 min. Cette solution a un pH de 6,5 et donne un pic d'absorption à 275 nm (Fig. 1-a).

(ii) Préparation de la solution de nitrate d'argent :

On prépare une solution à 10^{-3} M de nitrate d'argent et on la traite aux ultrasons pendant 20 min. à température ambiante. Le spectre UV-VIS de cette solution présente un pic à 302 nm (Fig. 1-b).

(iii) Préparation du colloïde de sérécine contenant de l'AgNP :

La solution de nitrate d'argent chauffée à 40°C est ajoutée à un volume égal de solution de sérécine chauffée à 60°C et soigneusement mélangée. On ajuste le pH de ce mélange à 8,5, en ajoutant une ou deux gouttes de solution NaOH à 5 %. Le point isoélectrique (point de solubilité minimum) de la sérécine est autour d'un pH de 4,5 à 4,7 et donc l'ajout de NaOH est nécessaire pour augmenter la solubilité.

On laisse le mélange reposer pendant 48 heures. La couleur de la solution devient progressivement jaune foncé, ce qui indique la formation de nanoparticules d'argent dans la solution colloïdale. Le spectre UV-vis de la solution stable présente un pic à 415,9 nm (Fig 1-c), qui indique la présence d'AgNP. Le pH de cette solution s'avère être de 7. La couleur de la solution colloïdale et la bande de plasmon de surface restent constantes pendant une période de 4 semaines, avec seulement un léger changement du spectre (Fig. 1-d).

Nous avons observé que la soude agit aussi comme catalyseur. La réaction progresse à un rythme très lent sans l'ajout de NaOH, ce qui donne des particules plus larges, avec une plus grande distribution de taille.

Caractérisation :

La SEM et la TEM (Figs. 2 et 3) indiquent que la taille moyenne d'AgNP est autour de 25 nm.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les pouvoirs réducteurs apparents de certains des acides aminés de la sérécine sont présentés dans le Tableau I (Hewitt, 1938). On a signalé que, quand on la chauffe, la tyrosine a approximativement la même activité réductrice que le dextrose, c'est-à-dire 100 g.

La sérécine à 0,2 % contient des quantités suffisantes de résidus d'acides aminés nécessaires pour réduire tous les ions AgNO_3 en ions Ag^+ dans la solution chauffée. On diminue à nouveau les ions d'argent en atomes Ag^0 et, dans les conditions idéales, un petit nombre de ces atomes voisins se regroupe pour former AgNP.

Par ailleurs, on peut voir d'après la Fig. 1 que le pic d'absorption UV se situe à 275 nm, ce qui correspond à l'un des deux pics de la tyrosine, c'est-à-dire 195 et 275.

Tandis que ce pic est absent du spectre UV de la solution colloïdale d'AgNP, ce qui indique que la tyrosine de la sérécine a été complètement utilisée dans le processus de réduction. Cela est aussi en accord avec les observations de Chen et coll., (2003). La raison de la baisse de pH de la solution colloïdale de 8,5 à 7 est due à la disparition des alcali (NaOH) de la solution, alors que la sérécine se dissout dans le milieu alcali, c'est-à-dire que la valeur du pH diminue (Kaneko, 1934).

CONCLUSION

La sérécine, extraite des cocons de vers à soie *Bombyx mori* par une procédure simple, a été utilisée efficacement dans la préparation de nanoparticules d'argent à partir du nitrate d'argent en suivant une méthode pratique. La sérécine a la capacité de fonctionner comme agent réducteur ainsi que comme agent enrobant. La stabilité des solutions a été confirmée pendant une période de 4 semaines.

REPORTING OF A NEW GENE "INHIBITOR OF DIAPAUSE" (ID) IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

RAJENDRA MUNDKUR*, MALLESHA MURTHY, R. LATHA, S. KRISHNA RAO
& B. M. SEKHARAPPA

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

Voltinism in silkworm, Bombyx mori is a genetically controlled maternally inherited biological event under the control of sex linked genes (Toyama, 1906; Murakami, 1990). Polyvoltine females lay non-hibernating eggs irrespective of whether they pair with polyvoltine or bivoltine males. Like wise bivoltine females lay hibernating eggs irrespective of whether they pair with bivoltine or polyvoltine males. However, an exception to this rule was recorded where, bivoltine females lay non-hibernating eggs when they pair with a special character race, KS-10 males (Rajendra Mundkur et al., 2004). Genetic studies on KS-10 indicate that it has a newly discovered dominant gene for inhibiting diapause of diapause-destined embryos. This gene is tentatively named as "Inhibitor of diapause" (Id).

Keywords: *Bombyx mori*, diapause, gene, inhibitor of diapause, Id, silkworm.

INTRODUCTION

Silkworm (*Bombyx mori* L.) races are classified on the basis of voltinism as Univoltines, Bivoltines and Polyvoltines (or Multivoltines), based on the number of generations they reproduce in a year under natural conditions. Generally, Univoltines (e.g., European races) have one life cycle per year. Bivoltines (e.g., Chinese and Japanese races) have two successive generations of non-hibernation and hibernation per year. During rest of the period they undergo hibernation in the egg stage. However, in tropical conditions, like in India, Univoltines and Bivoltines always lay diapausing eggs. Hence the races which lay diapausing type of eggs are generally called "Bivoltines". Polyvoltine (e.g., Tropical races) eggs do not undergo hibernation. In silkworm, fertilization is external. In polyvoltines, embryos develop continuously and hatch in about 10-11 days after egg laying. Whereas, in univoltines and bivoltines, the embryos pause development and enter diapause (hibernation) during Stage-4 (germ band formation stage) which will be reached at about 20-22 hours after oviposition. To prevent diapause, the eggs during this stage are to be subjected to acid treatment or scheduled low temperature incubation (at 2.5 and 5°C) (Yamashita and Yagimura, 1991). Voltinism in silkworm is genetically controlled (Murakami, 1990) and is described by Toyama (1906), as a maternally inherited biological event under the control of sex-linked genes. Polyvoltine females lay non-hibernating eggs irrespective of whether they pair with polyvoltine or bivoltine males. Like wise bivoltine females lay hibernating eggs irrespective of whether they pair with bivoltine or polyvoltine males. Therefore, males do not have any role over the determination of voltinism of the offspring. Voltinism is entirely governed by maternal genes. However, an exception to this well established

* Corresponding author, Scientist-C, Silkworm Breeding Unit (KSSRD1), Bidadi-562 109, Ramanagar District, Karnataka, India. Phone: 91-80-7282227, Email: rajendra.mundkur@gmail.com

phenomenon was recorded in our laboratory, where, bivoltine females (which were destined to lay hibernating eggs) laid non-hibernating eggs when they were paired with the males of a special character race, KS-10 (Rajendra Mundkur *et al.*, 2004). To understand the basis of the "Paternal influence of voltinism", genetic studies were undertaken.

MATERIALS AND METHODS

Silkworm races NP4, KS-10 and Pure Mysore (PM) were taken for the experiment. NP4 is an approved tropical bivoltine race. The eggs of NP4 undergo hibernation in every generation. To make them hatch, standard acid treatment or scheduled cold treatment procedure is required. KS-10 is a non-diapausing race with a special character of preventing diapause in bivoltines (Rajendra Mundkur *et al.*, 2004). PM is the polyvoltine ruling race of South India, which lays non-diapausing eggs.

Table I. Hatching details of the F1 eggs of NP4 × KS-10.

Tableau I. Caractéristiques de l'éclosion des oeufs de NP4 × KS-10 en F1.

Sl No.	Fecundity	Hatched (No)	Hatching%	Unhatched (No)	Unhatched %
<i>No. de série</i>	<i>Fécondité</i>	<i>Nbre ayant éclos</i>	<i>% d'éclosion</i>	<i>Nbre n'ayant pas éclos</i>	<i>% n'ayant pas éclos</i>
1	486	483	99.38	3	0.62
2	470	468	99.57	2	0.43
3	478	471	98.54	7	1.46
4	466	464	99.57	2	0.43
5	485	480	98.97	5	1.03
6	479	477	99.58	2	0.42
7	469	468	99.79	1	0.21
8	454	454	100.00	0	0.00
9	426	423	99.30	3	0.70
10	479	477	99.58	2	0.42
11	468	465	99.36	3	0.64
12	469	469	100.00	0	0.00
13	483	482	99.79	1	0.21
14	455	453	99.56	2	0.44
15	453	451	99.56	2	0.44
16	482	478	99.17	4	0.83
17	487	484	99.38	3	0.62
18	475	473	99.58	2	0.42
19	459	459	100.00	0	0.00
20	464	463	99.78	1	0.22
21	477	475	99.58	2	0.42
22	484	481	99.38	3	0.62
23	479	476	99.37	3	0.63
24	484	482	99.59	2	0.41
25	466	464	99.57	2	0.43
Sum / Somme	11777	11720	99.52	57	0.48
Ave / Moyenne	471	469	99.52	2	0.48
SD±	14.04	13.64	0.32	1.54	0.32

The following crosses were made:

Cross-A: F1 of NP4 × KS-10 (Experimental cross)

Cross-B: F1 of NP4 × NP4 (Control 1, Bivoltine × Bivoltine or selfing)

Cross-C: F1 of NP4 × PM (Control 2, Bivoltine × Polyvoltine).

Cross-D: F2 of NP4 × KS-10 (F1 × F1) i.e., [(NP4 × KS-10) × (NP4 × KS10)]

Table II. Hatching details of the F2 eggs of NP4 × KS-10.

Tableau II. Caractéristiques de l'éclosion des oeufs de NP4 × KS-10 en F2.

Sl No.	Fecundity	Hatched (No)	Hatching%	Unhatched (No)	Unhatched%
<i>No. de série</i>	<i>Fécondité</i>	<i>Nbre ayant éclos</i>	<i>% d'éclosion</i>	<i>Nbre n'ayant pas éclos</i>	<i>% n'ayant pas éclos</i>
1	536	406	75.75	130	24.25
2	566	434	76.68	132	23.32
3	469	338	72.07	131	27.93
4	512	382	74.61	130	25.39
5	542	406	74.91	136	25.09
6	547	412	75.32	135	24.68
7	563	424	75.31	139	24.69
8	530	402	75.85	128	24.15
9	544	413	75.92	131	24.08
10	580	448	77.24	132	22.76
11	540	403	74.63	137	25.37
12	550	418	76.00	132	24.00
13	553	421	76.13	132	23.87
14	534	405	75.84	129	24.16
15	540	409	75.74	131	24.26
16	559	427	76.39	132	23.61
17	553	420	75.95	133	24.05
18	563	425	75.49	138	24.51
19	538	407	75.65	131	24.35
20	554	421	75.99	133	24.01
21	541	408	75.42	133	24.58
22	550	416	75.64	134	24.36
23	552	419	75.91	133	24.09
24	565	428	75.75	137	24.25
25	562	423	75.27	139	24.73
Sum / Somme	13643	10315	75.58	3328	24.42
Average / Moyenne	546	413	75.58	133	24.42
$\chi^2(h_0 = \text{For Hatched : Non hatched} = 3:1 \text{ ratio}) =$					0.02428
$\chi^2(h_0 = \text{Eclos : non éclos} = \text{ratio } 3 : 1) =$					0.02428

In Cross A, when females of bivoltine parent NP4 were crossed with males of non diapausing parent KS-10, the F1 layings laid by bivoltine NP4 females hatched under natural conditions without entering into diapause (Table I). In Cross B, when females of bivoltine parent NP4 were crossed with males of bivoltine parent NP4 (selfing), the F1 layings laid by bivoltine NP4 females entered into diapause and the eggs did not hatch. In Cross-C, when females of bivoltine parent NP4 were crossed with males of polyvoltine PM, the F1 layings laid by bivoltine NP4 females entered into diapause and the eggs did not hatch.

Larvae hatched from Cross A were reared following standard package of practices of rearing (Dandin *et al.*, 2001). Since the F1 eggs of Cross-B and Cross-C did not hatch, they were not continued. Three replications were maintained. Cocoons were harvested and F2 (Cross-D) layings were prepared by selfing the F1 of Cross-A among themselves. Hatching data were tabulated in Table II.

RESULTS AND DISCUSSION

Table I gives the details of the eggs hatched in the F1 generation of the cross-A (NP4 × KS-10). Data indicate that for 25 randomly selected layings hatching percentage is 99.52%. Generally, when bivoltine female is crossed with the males of a polyvoltine or a bivoltine, the resulting eggs laid by such bivoltine females do not hatch. They undergo hibernation. But when any bivoltine female is crossed with the males of KS-10, the resulting eggs laid by such bivoltine females do not enter into hibernation and they hatch like polyvoltine eggs (Rajendra Mundkur *et al.*, 2004).

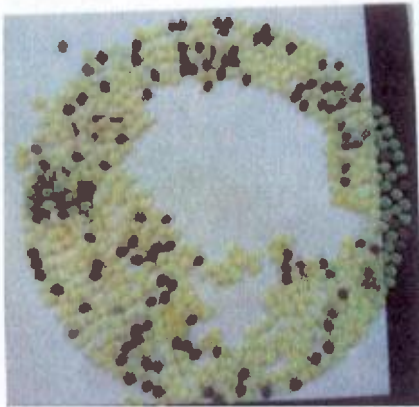


Fig. 1. One laying enlarged to show chorion shells of the eggs after hatching and healthy hibernating eggs. In this laying, out of 542 eggs, 406 have hatched (74.91%) and 136 are diapausing (25.09%).

Fig. 1. Grossissement d'une ponte montrant les chorions des oeufs après l'éclosion et les oeufs sains à hibernation. Dans cette ponte, sur 542 œufs, 406 ont éclos (74,91 %) et 136 sont à diapause (25,09 %).

To study the nature of the 'Factor' responsible for the prevention of diapause in diapause-destined eggs, F2 cross was made by crossing F1 × F1 of NP4 × KS-10. Data (Table II) indicate that in 25 randomly selected layings, out of 13,643 eggs 10,315 eggs have hatched (75.58%) and remaining 3328 (24.42%) eggs did not hatch. Examination of these unhatched eggs revealed that they were healthy and undergoing hibernation. Fig. 1 shows an enlarged single F2 laying to show the chorion shells after hatching (~75%) and grey colored healthy hibernating eggs (~25%). Fig. 2 schematically represents the segregation pattern of the probable gene responsible for prevention of diapause. It is hypothesized that the factor responsible for the prevention of diapause is a dominant gene. This gene is presumed to be present in KS-10. When NP4 bivoltine female is crossed with KS-10 male, the eggs laid by NP4 female have hatched without entering into diapause, because the indicated gene has prevented the eggs from entering into diapause. In F2, as per the Mendelian segregation pattern, (Fig. 2), about 75%

eggs in each laying have hatched and about 25% did not hatch (3:1). The Chi-square analysis indicated that there is no significant difference between the observed and expected value of the hypothesis. Fig. 2 schematically depicts that when a bivoltine female is crossed with KS-10 male, all the eggs in F1 laid by the bivoltine female hatch, because, the Inhibitor of diapause gene present in KS-10 prevents the eggs from entering into diapause, though they were programmed to undergo diapause. In F2 combination, males produce four kinds of gametes because of crossing over and recombination. While, female produces two kinds of gametes because of the lack of crossing over and recombination in females (Sturtevant, 1914). These gametes combine to produce eight classes of combinations, out of which, two classes of individuals do not carry "Inhibitor of diapause" gene and therefore they do not hatch. While remaining six categories of individuals carry the "Inhibitor of diapause" gene and therefore they hatch. In another related study, the present authors have shown the evidence for the occurrence of crossing over in females too. Considering that crossing over occurs in females also, a total of 16 categories of individuals are formed, out of which 4 categories which do not carry the "Inhibitor of diapause" gene do not hatch while the remaining 12 categories hatch. This tallies with the hypothesis that the factor responsible for the prevention of diapause is a dominant gene. This gene is tentatively named as "Inhibitor of diapause" (Id).

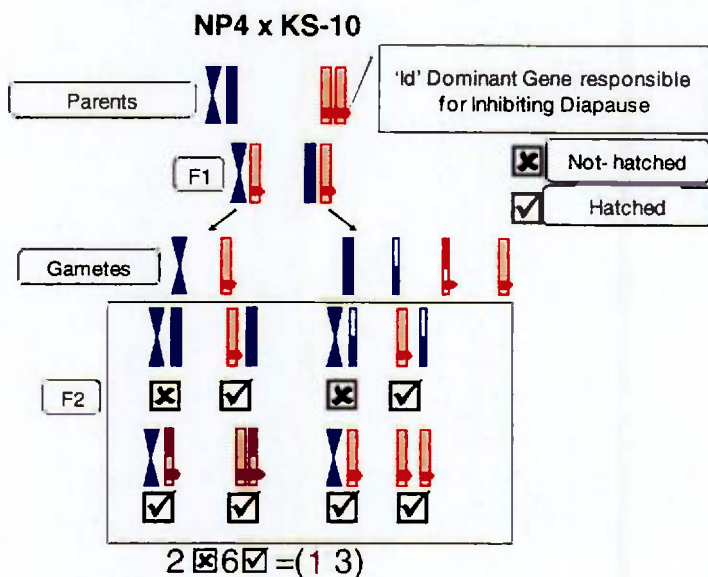


Fig. 2. Schematic representation of genetic segregation pattern. When NP4 (Bivoltine) female is crossed with KS-10 male, in F1 all the eggs hatch. In F2, 3 part hatches and one part undergoes diapause (3:1).

Fig. 2. Représentation schématique de la structure de ségrégation génétique. Quand on croise une femelle NP4 (bivoltine) avec un mâle KS-10, en F1 tous les œufs éclosent. En F2, 3 parties éclosent et une partie subit la diapause (3:1).

Much of the work on voltinism has been done in temperate zone. Umeya (1925, 1926) opined that gene responsible for diapause is located on the sex-chromosome. Morohoshi (1976) indicated that the major gene for Voltinism (V) is located on the sixth linkage group (21.5 units). Nagamoto (1942) proposed that the sex-linked gene Lm (I-2.00) affects voltinism, moultnism and cocoon weight to a marked extent. Katsumata (1968) detected an autosomal non-diapausing egg mutant "pnd" (pigmented non-diapausing recessive gene: XI-53.7) in the Indonesian polyvoltine race "Cambodge". Murakami (1987, 1988) identified "npnd" (non-pigmented non-diapausing recessive gene: XII-2.6) a gene responsible for polyvoltinism which is also epistatic to "pnd". On the other hand information on voltinism under tropical conditions is scanty. Subramanya and Murakami (1994) were of the opinion that biology of tropical and temperate voltinism is an entirely different mechanism. They

opine that the voltinism phenomenon is a polygenic inheritance system under the regulation of genes present in autosomes, sex-chromosomes and autosomal modifiers. Yamashita (1996) says that DH-PBAN (Diapause Hormone-Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide) gene expression in the sub-esophageal ganglion is the initial event leading to diapause induction.

These reports indicate that at the time of development of ovum in the ovary of the mother moth, its destiny to undergo diapause or otherwise, is determined by the mother. Fertilization of the ovum is external and occurs at about 30 minutes after the oviposition. Soon after the fertilization, the embryo develops for about 18-22 hours up to the formation of germ band. Diapause-destined embryos enter diapause during this stage. Acid treatment later to this stage has no effect on the pre-determined diapause behavior. The present study indicates that the gene contributed by male (KS-10) supersedes the gene actions of different diapause related genes contributed by the mother (such as V, Lm or DH-PBAN) and prevents the diapause. Mendelian segregation pattern in F2 generation suggest that it is a Dominant gene.

REFERENCES

- DANDIN S.B., JAYANTH JAYASWAL, GIRIDHAR K. (Eds.) (2001) Handbook of Sericulture Technologies. Pub. by Central Silk Board, India.
- KATSUMATA F. (1968) Non maternal inheritance in Voltinism observed in the crossing experiments between Indonesian polyvoltine and Japanese bivoltine races of silkworm, *Bombyx mori* . J. Seric. Sci. Jpn., 37:453-461.
- NAGAMOTO T. (1942) On the inheritance of voltinism in the silkworm, *Bombyx mori*. J.Seric.Sci.Jpn., 13:114-115.
- MOROHOSHI S. (1976) Growth Physiology in Silkworm. Tokyo Univ. Press Tokyo.
- MURAKAMI A. (1987) Studies on the voltinism gene "pnd" in a tropical race of *Bombyx mori*. Ann. Rep. Nat. Inst. Genet., 37: 51-52.
- MURAKAMI A. (1988) Ecogenetical studies on tropical mulberry *Bombyx mori*. Proceedings of the Int. Cong. on Tropical Seric. Practices, Bangalore, India, 11-23.
- MURAKAMI A. (1990) Insect adaptation and genetics- A special reference to *Bombyx* egg diapause. Nat. Inst. Seric. Entomol. Sci., 4: 43-58.
- RAJENDRA MUNDKUR, MALLESHA MURTHY, MAHADEVAPPA, RAGHURAMAN R. BONGALE U.D. (2004) Prevention of diapause in bivoltine eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, L., through a cross with the race KS-10 as male parent. Int. J. Indust.Entomol., 9(1):107-109.
- STURTEVANT A.H. (1914) No crossing over in the females of the silkworm moth. The American Naturalist, 49(577): 42-44.
- SUBRAMANYA G., MURAKAMI A. (1994) Climatic differential phenotypic expression of voltine genes in *Bombyx mori*, L. Indian J. Seric., 33(2):103-109.
- TOYAMA K. (1906) Mendel's law of heredity as applied to the silkworm crosses. Biol. Zentralbl., 26: 321-334.
- UMEYA Y. (1925) On the experiments of ovarian transplantation and blood transfusion in the silkworm with special reference to the alternation of voltinism. Jpn. J. Genet., 3: 155-182.
- UMEYA Y. (1926) Experiments of ovarian transplantation and blood transfusion in the silkworm, with special reference to the alternation of voltinism. Bull. Seri. Exp. Stn. Jpn., 1: 1-26.
- YAMASHITA O., YAGIMURA T. (1991) Silkworm eggs at low temperature, Implications for sericulture: Chapter 18 of the book Insects at Low Temperature. Eds: Richard, E. Lee, Jr. and David L Denlinger. Pub: Chapman & Hall, New York., Pp: 424-445.
- YAMASHITA O. (1996) Diapause Hormone of silkworm, *Bombyx mori*: structure, gene expression and function. Int. Insect Physiol., 42(7): 669-679.

RAPPORT SUR UN NOUVEAU GÈNE « INHIBITEUR DE LA DIAPAUSE » (ID) CHEZ LE VER À SOIE, *BOMBYX MORI* L.

RAJENDRA MUNDKUR*, MALLESHA MURTHY, R. LATHA, S. KRISHNA RAO
& B. M. SEKHARAPPA

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

*Le voltinisme chez le ver à soie **Bombyx mori** est un évènement biologique hérité de la mère, contrôlé génétiquement par des gènes liés au sexe (Toyama, 1906 ; Murakami, 1990). Les femelles polyvoltines pondent des œufs sans hibernation, qu'elles s'accouplent avec des mâles polyvoltins ou bivoltins. De même, les femelles bivoltines pondent des œufs à hibernation, qu'elles s'accouplent avec des mâles bivoltins ou polyvoltins. Cependant, il existe une exception à cette règle : les femelles bivoltines pondent des œufs sans hibernation, quand elles sont accouplées avec des mâles d'une race à caractère spécial, KS-10 (Rajendra Mundkur et coll., 2004). Les études génétiques sur KS-10 indiquent qu'elle a un gène dominant découvert récemment, qui inhibe la diapause des embryons. On a nommé ce gène « inhibiteur de diapause » (Id).*

INTRODUCTION

Les races de ver à soie (*Bombyx mori* L) sont classées sur la base du voltinisme en tant que monovoltines, bivoltines et polyvoltines (ou multivoltines), d'après le nombre de générations qu'elles produisent en une année dans des conditions naturelles. En général, les monovoltines (par exemple, les races européennes) ont un cycle de vie par an. Les bivoltines (par exemple, les races chinoises et japonaises) ont deux générations successives de non-hibernation et d'hibernation par an. Pendant le reste de la période, elles subissent une hibernation pendant le stade de l'œuf. Cependant, dans les conditions tropicales, comme en Inde, les monovoltines et les bivoltines pondent toujours des œufs à diapause. On appelle donc en général les races qui pondent des œufs à diapause « bivoltines ». Les œufs polyvoltins (par exemple, les races tropicales) ne subissent pas d'hibernation. Chez le ver à soie, la fécondation est externe. Chez les polyvoltins, les embryons se développent de manière continue et éclosent au bout de 10 à 11 jours après la ponte des œufs. Tandis que, chez les monovoltins et les bivoltins, les embryons arrêtent le développement et entrent en diapause (hibernation) pendant le stade 4 (stade de formation de la bandelette germinative) qui sera atteint environ 20 à 22 heures après la ponte. Pour empêcher la diapause, on soumet les œufs pendant ce stade à un traitement à l'acide ou à une incubation programmée à basse température (à 2,5° et 5° C) (Yamashita et Yagimura, 1991). Le voltinisme chez le ver à soie est contrôlé génétiquement (Murakami, 1990) et décrit par Toyama (1906) comme un évènement biologique hérité de la mère sous le contrôle des gènes liés au sexe. Les femelles polyvoltines pondent des œufs sans hibernation, qu'elles s'accouplent avec des mâles polyvoltins ou bivoltins. De même, les femelles bivoltines pondent des œufs à hibernation, qu'elles

* Auteur auquel adresser la correspondance : Scientist C, Silkworm Breeding Unit (KSSRDI), Bidadi- 562 109, Ramanagar District, Karnataka, Inde. Tel : 91 – 80 728 22 27, Email : rajendra.mundkur @gmail.com

s'accouplent avec des mâles polyvoltins ou bivoltins. Les mâles n'ont donc pas de rôle dans la détermination du voltinisme de la descendance. Le voltinisme est entièrement gouverné par les gènes maternels. Cependant, nous avons enregistré une exception dans notre laboratoire à ce phénomène bien établi, où des femelles bivoltines (qui sont destinées à pondre des œufs à hibernation) pondent des œufs sans hibernation, quand on les accouple avec les mâles d'une race à caractère spécial, KS-10 (Rajendra Mundkur et coll., 2004). Pour comprendre la base de « l'influence paternelle du voltinisme », nous avons entrepris des études génétiques.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons pris les races de ver à soie NP4, KS-10 et Pure Mysore (PM) pour l'expérience. NP4 est une race bivoltine tropicale approuvée. Les œufs de NP4 subissent une hibernation à chaque génération. Pour les faire éclore, un traitement standard à l'acide ou une procédure programmée de traitement au froid sont nécessaires. KS-10 est une race sans diapause avec un caractère spécial qui empêche la diapause chez les bivoltins (Rajendra Mundkur et coll., 2004). PM est la race polyvoltine dominante dans le sud de l'Inde, qui pond des œufs sans diapause.

On procède aux croisements suivants :

Croisement A : F1 de NP4 × KS10 (croisement expérimental)

Croisement B : F1 de NP4 × NP4 (Témoin1, Bivoltin × Bivoltin ou intracroisement)

Croisement C : F1 de NP4 × PM (Témoin 2, Bivoltin × Polyvoltin)

Croisement D : F2 de NP4 × KS-10 (F1 × F1) c'est-à-dire [(NP4 × KS10) × (NP4 × KS10)]

Dans le croisement A, quand on croise les femelles du parent bivoltin NP4 avec les mâles du parent sans diapause KS-10, les pontes F1 pondues par les femelles bivoltines NP4 éclosent dans des conditions naturelles sans entrer en diapause (Tableau I). Dans le croisement B, quand on croise les femelles du parent bivoltin NP4 avec les mâles du parent bivoltin NP4 (intracroisement), les pontes F1 pondues par les femelles bivoltines NP4 entrent en diapause et leurs œufs n'éclosent pas. Dans le croisement C, quand on croise les femelles du parent bivoltin NP4 avec les mâles du polyvoltin PM, les pontes F1 pondues par les femelles bivoltines NP4 entrent en diapause et les œufs n'éclosent pas.

On élève les larves écloses à partir du croisement A, en suivant l'ensemble habituel de pratiques d'élevage (Dandin et coll., 2001). Puisque les œufs F1 du croisement B et du croisement C n'éclosent pas, on ne les élève pas. On maintient trois répétitions. On recueille les cocons et on prépare les pontes F2 (Croisement D) en autofécondant les F1 du croisement A entre eux. Les données d'éclosion apparaissent dans le Tableau II.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le Tableau I présente les caractéristiques des œufs du croisement A (NP4 × KS-10) ayant éclos pendant la génération F1. Les données indiquent que pour 25 pontes sélectionnées de manière aléatoire, le pourcentage d'éclosion est de 99,52 %. En général, quand on croise une femelle bivoltine avec les mâles d'un polyvoltin ou d'un bivoltin, les œufs pondus par ces femelles bivoltines n'éclosent pas. Ils subissent une hibernation. Mais, quand on croise n'importe quelle femelle bivoltine avec les mâles de KS-10, les œufs obtenus pondus par ces femelles bivoltines n'entrent pas en hibernation et ils éclosent comme des œufs polyvoltins (Rajendra Mundkur et coll., 2004).

Pour étudier la nature du facteur responsable de l'empêchement de la diapause chez les œufs destinés à la diapause, on procède au croisement F2 en croisant F1 × F1 de NP4 × KS-10. Les données (Tableau II) indiquent que sur 25 pontes sélectionnées de manière aléatoire, sur 13 643 œufs, 10 315

œufs ont éclos (75,58 %) et les 3328 œufs restants (24,42 %) n'éclosent pas. L'examen de ces œufs n'ayant pas éclos révèle qu'ils sont sains et subissent l'hibernation. La Fig. 1 présente un agrandissement d'une ponte F2 pour montrer les coques du chorion après l'éclosion (~ 75 %) et les œufs à hibernation sains de couleur grise (~25 %). La Fig. 2. représente schématiquement la structure de ségrégation du gène probablement responsable de l'empêchement de la diapause. On a émis l'hypothèse que le facteur responsable de l'empêchement de la diapause est un gène dominant. On suppose que ce gène est présent chez KS-10. Quand on croise la femelle bivoltine NP4 avec le mâle KS-10, les œufs pondus par la femelle NP4 ont éclos sans entrer en diapause, parce que le gène indiqué a empêché les œufs d'entrer en diapause. En F2, d'après la structure de ségrégation Mendélienne (Fig. 2) environ 75 % des œufs de chaque ponte ont éclos et environ 25 % n'ont pas éclos (3 : 1). L'analyse du Chi-carré indique qu'il n'y a pas de différence significative entre la valeur observée et attendue de l'hypothèse. La Fig. 2. montre que lorsqu'on croise une femelle bivoltine avec un mâle KS-10, tous les œufs pondus en F1 par la femelle bivoltine éclosent, parce que le gène inhibiteur de la diapause présent chez KS-10 empêche les œufs d'entrer en diapause, bien qu'ils aient été programmés pour subir la diapause. Dans la combinaison F2, les mâles produisent quatre types de gamètes en raison du crossing-over et de la recombinaison. Tandis que la femelle produit deux types de gamètes en raison du manque de crossing-over et de recombinaison chez les femelles (Sturtevant, 1914). Ces gamètes se combinent pour produire huit classes de combinaisons, sur lesquelles, deux classes d'individus ne portent pas le gène « inhibiteur de la diapause » et donc n'éclosent pas. Tandis que les six catégories d'individus restants portent le gène « Inhibiteur de la diapause » et donc elles éclosent. Dans une autre étude apparentée, les auteurs de cet article ont prouvé qu'il se produit également un crossing-over chez les femelles. Compte tenu du fait que le crossing-over se produit aussi chez les femelles, un total de 16 catégories d'individus se forme, sur lequel 4 catégories qui ne portent pas le gène « inhibiteur de la diapause » n'éclosent pas, tandis que les 12 catégories restantes éclosent. Cela confirme l'hypothèse que le facteur responsable de l'empêchement de la diapause est un gène dominant. On a appelé ce gène à titre d'essai «Inhibiteur de diapause » (Id).

La plupart des travaux sur le voltinisme ont été réalisés dans la zone tempérée. Umeya (1925, 1926) a émis l'opinion que le gène responsable de la diapause est situé sur le chromosome sexuel. Morohoshi (1976) a indiqué que le gène principal du Voltinisme (V) est situé sur le sixième groupe de liaison (21,5 unités). Nagamoto (1942) a suggéré que le gène lié au sexe Lm (1-2,00) a un effet marqué sur le voltinisme, la mue et le poids du cocon. Katsumata (1968) a détecté un mutant de l'oeuf sans diapause autosomique « *pnd* » (gène récessif sans diapause pigmenté : XI-53,7) chez la race polyvoltine Indonésienne «Cambodge ». Murakami (1987, 1988) a identifié « *npnd* » (gène récessif sans diapause non pigmenté : XII-2,6), un gène responsable du polyvoltinisme qui est aussi épistatique à « *pnd* ». D'autre part, les informations sur le voltinisme dans les conditions tropicales sont rares. Subramanya et Murakami (1994) ont émis l'opinion que la biologie du voltinisme tropical et tempéré est un mécanisme complètement différent. Ils ont pensé que le phénomène du voltinisme est un système d'héritage polygénique sous la régulation de gènes présents sur les autosomes, dans les chromosomes sexuels et dans les modificateurs autosomiques. Yamashita (1996) a spécifié que l'expression du gène DH-PBAN (neuropeptide activant la biosynthèse des phéromones et de l'hormone de diapause) dans le ganglion sous-oesophagien est l'évènement initial qui entraîne l'induction de la diapause.

Ces rapports indiquent qu'au moment du développement de l'ovule dans l'ovaire du papillon mère, sa destinée de subir la diapause ou pas est déterminée. La fécondation de l'ovule est externe et se produit environ 30 minutes après l'oviposition. Peu après la fécondation, l'embryon se développe pendant 18-22 heures jusqu'à la formation de la bandelette germinative. Les embryons destinés à la diapause entrent en diapause pendant cette étape. Le traitement à l'acide après ce stade n'a pas d'effet sur le comportement de diapause prédéterminé. Notre étude indique que le gène apporté par le mâle

(KS-10) supplante les actions des différents gènes liés à la diapause dépendant de la mère (tels que V, Lm, ou DH-PBAN) et empêche la diapause. La structure de ségrégation mendélienne dans la génération F2 suggère que c'est un gène dominant.

**SEX PREFERENCE IN HOST PARASITISATION OF
XANTHOPIMPLA PEDATOR FABRICIUS (HYMENOPTERA:
ICHNEUMONIDAE), A MAJOR PARASITOID OF TASAR
SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY**

U. N. SINGH, RAJ NARAIN, D. CHAKRAVORTY* & P. N. TRIPATHI**

Basic Seed Multiplication and Training Centre, Boirdadar, Raigarh-496004, Chhattisgarh, India.

The tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury is an important silk producing insect in India which is attacked by many insect and non-insect pests. The rearing of tasar silkworm is conducted outdoor on raised plantation or nature grown plants of *Terminalia tomentosa* (W&A) and *Terminalia arjuna* (Bedd.). Occurrence of Ichneumon fly, *Xanthopimpla pedator* Fabricius infestation in tasar is a common feature but its severity varies from year to year and season to season. In the year 2008 its infestation was observed at high pitch and its impact on seed production was realized at Basic Seed Multiplication and Training Centre (BSM&TC), Boirdadar, Raigarh, Chhattisgarh, India. Therefore, an investigation was carried out in both the ecoraces i.e., Daba bivoltine (BV) and Daba trivoltine (TV) of tasar silkworm during all the three crops raised at six different locations viz., Boirdadar, Katkalia, Chhapora, Kudumkela, Saria and Kandola. Accordingly, the rate of infestation was 0.2% and 29.5% in third and second crop of Daba TV race, respectively. In the infested population the number of male cocoons was always more as compared to females indicating that *X. pedator* has male sex preference in host parasitisation. This preference leads to reversal of sex ratio in an infested host population thereby changing the normal grainage behaviour which is evident by poor pairing percentage and grainage performance.

Keywords: Parasitoid, *Xanthopimpla pedator*, Ichneumon fly, *Antheraea mylitta*

INTRODUCTION

The tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury completes its life - cycle twice or thrice in a year depending on biotic and abiotic factors. Accordingly, the race is recognized as bivoltine or trivoltine. The first crop is undertaken in the month of June/July, second crop during September/October and the third crop in the month of November/December. The tasar silkworm, *A. mylitta* is known to be parasitised by *Blepharipa zebina* Walker and *Xanthopimpla pedator* Fabricius that cause damage of varying degrees.

X. pedator, commonly known as ichneumon fly is a major parasitoid of tasar silkworm which causes heavy pupal loss in tasar grainages that severely affects seed production. Infestation of ichneumon fly in tasar silkworm has been well documented (Jolly *et al.*, 1976). Its bioecology is still an enigma to sericulture scientists in India. However, according to meager information available, it initiates its life - cycle in the body of tasar silkworm by piercing its ovipositor in the abdomen of fifth instar silkworm and lays an egg inside when silkworm starts cocoon formation. In the course of development silkworm transforms into pupa inside the cocoon and the parasitoid feeds on pupal

* Basic Tasar Silkworm Seed Organisation, Bilaspur-495001, Chhattisgarh India

**K. S. Saket P. G. College, Ayodhya, U.P., India

tissues and completes its entire larval stages inside and pupate. The parasitoid transforms itself into adult within the pupa and then pierces its way out by making a characteristic hole in the anterior region of the cocoon. The present paper is the outcome of observations on poor grainage performance of *A. mylitta* during the year 2008-09 at Basic Seed Multiplication and Training Centre (BSM&TC), Boirdadar when emergence rate of moths was found to be very low.

MATERIALS AND METHODS

During the year 2008-09 at Basic Seed Multiplication and Training Centre (BSM&TC), Boirdadar, tasar silkworm rearing of Daba bivoltine / trivoltine ecoraces were taken up during first, second and third crops at Boirdadar, Chhapora, Kandola, Saria, Katkalia and Kudumkela farms. These farms are located about 50-90 kilometers away from Boirdadar farm in Raigarh district of Chhattisgarh state. Tasar silkworm being wild in nature, its rearing was conducted on raised plantations and nature grown forest plants of *Terminalia arjuna* (Bedd.) and *Terminalia tomentosa* (W&A). After completion of rearing, selected seed cocoons were brought to the laboratory and preserved in grainages for seed production.

The cocoon assessment was done after grainage operations in non-diapausing stock and in the last week of February in diapausing stock when the emergence of ichneumon fly stopped. For this purpose, one thousand dead / unmerged cocoons from each lot were cut open, sexed out and the pupae were dissected to find out the ichneumon infestation by counting the individual infested cocoons. The parasitoid was found in different stages of its development. The dead adult ichneumon fly was also found in few cocoons indicating that it could not escape the hard shell of the cocoons.

The climatic conditions of all the six experimental locations were more or less similar. The mean values of temperature and relative humidity during the month of August were 27.5°C and 76.5%, September 28.5°C and 75.5%, October 24.5°C and 65%, November 23.5°C and 62% whereas in December 19.5°C and 61% respectively.

RESULTS

The data on infestation of ichneumon fly during different crops in the year 2008-09 at BSM&TC Boirdadar are presented in Table I.

Dead cocoon assessment of first crop Daba Bivoltine ecorace revealed 6.7% ichneumon infestation in Boirdadar and 6.6 % in Chhapora lot. Infested male cocoons were 71.6% and 66.6% whereas female cocoons 28.4% and 33.4% in respective lots.

Sex wise (male: female) ichneumon infestation during second crop trivoltine rearing was 68.6%: 31.4% in Boirdadar whereas 64.7: 35.3 in Kudumkela lot. However, the total infested cocoons were found to be 13.4% and 29.5% in these lots respectively.

During the second crop bivoltine rearing, 11.70% ichneumon infestation was recorded in Boirdadar, 3.9% in Kandola whereas no infestation was recorded in Saria lot. In Boirdadar lot 63.2% infested cocoons were found to be males whereas 36.8% cocoons were females. Similarly of the total 3.9% infested cocoons, 79.4% cocoons were males against 20.6% females in Kandola lot.

During the third crop trivoltine rearing, ichneumon infestation was very low i.e., 0.2% in Boirdadar lot and 5.9% in Kudumkela lot. Of the total infested cocoons, 64.4% cocoons were males whereas 35.6% females.

The assessment of seed cocoons revealed that cocoon and shell weights of males were less as compared to females in all the crops (Table II). Thus, the male cocoons are lighter in weight with thin shell whereas females are heavier with thick shell.

The infestation of ichneumon fly was 6.7% in the cocoons spun during the month of August, 13.4 – 29.5% in September, 3.9 – 11.7% in October and 0.2 – 5.9% in December.

Table I. Ichneumon fly infestation in different crops of Daba ecorace of tasar silkworm during the year 2008-09.

Tableau I. Infestation par la mouche Ichneumon pendant les différentes récoltes de l'écorace Daba du ver à soie tasar pendant l'année 2008-09.

Crop	Place of Rearing	Eco-Race	Dfls Reared	Seed cocoons harvested (No.)	Ichneumon infested cocoons (No./ 1000)			Cocoon Dfls Ratio
					Male	Female	Total	
<i>Récolte</i>	<i>Lieu d'élevage</i>		<i>Pontes saines élevées</i>	<i>Récolte de cocons de grainage (nbre)</i>	<i>Cocons infestés par Ichneumon (Nbre / 1000)</i>			<i>Ratio Cocons - Pontes saines</i>
					<i>Mâle</i>	<i>Femelle</i>	<i>Total</i>	
I	Katkalia	Daba TV	3000	82000	0	0	0	4.1:1
I	Boirdadar	Daba BV	2000	61500	48 (71.6)	19 (28.4)	67 (6.7)	4.5:1
I	Chhapora	Daba BV	2500	68000	44 (66.6)	22 (33.4)	66 (6.6)	4.7:1
II	Boirdadar	Daba TV	1000	67000	92 (68.6)	42 (31.4)	134(13.4)	5.3:1
II	Kudumkela	Daba TV	3000	158000	191(64.70)	104 (35.3)	295 (29.5)	7.2:1
II	Saria	Daba BV	1000	65625	0	0	0	4:1
II	Kandola	Daba BV	2000	97400	31(79.4)	8 (20.6)	39 (3.9)	4.1: 1
II	Boirdadar	Daba BV	4000	201000	74 (63.2)	43 (36.8)	117 (11.7)	5.1:1
III	Boirdadar	Daba TV	1000	23600	2 (0.2)	0 (0)	2 (0.2)	Grainage discarded Grainage rejeté
III	Kudumkela	Daba TV	2000	101500	38 (64.4)	21 (35.6)	59 (5.9)	

Figures in parenthesis indicate percentage of Ichneumon infestation / Les chiffres entre parenthèses indiquent le pourcentage d'infestation par Ichneumon.

Table II. Crop-wise assessment of seed cocoons of Daba ecorace of *A. mylitta*.

Tableau II. Evaluation des cocons de grainage de l'écorace Daba de *A. mylitta* en fonction des récoltes.

Crop	Race	Sex	Cocoon weight (g)	Shell weight (g)	Shell %
Récolte		Sexe	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
I	Daba TV	Male / Mâle	7.43	0.73	9.82
		Female / Femelle	9.98	0.83	8.31
I	Daba BV	Male / Mâle	8.73	1.13	12.94
		Female / Femelle	11.7	1.25	10.68
II	DabaTV	Male / Mâle	8.27	0.91	11.00
		Female / Femelle	10.6	1.08	10.18
II	Daba BV	Male / Mâle	9.78	1.64	16.76
		Female / Femelle	12.1	1.71	14.13
III	Daba TV	Male / Mâle	8.22	1.21	14.72
		Female / Femelle	10.8	1.39	12.87

DISCUSSION

It is evident from the observations that *X. pedator* is a major parasitoid of tasar silkworm, *A. mylitta*. These flies are observed in the rearing field from July to February. Its infestation in *A. mylitta* starts in the month of July during first crop season and continues from second to third crop season where it terminates in February when the host undergoes diapause. However, the extent of damage done by it, varies from season to season and place to place. Its larger population is found during second crop season i.e. in the month of September and October which appears to be its peak period of parasitization. It clearly indicates that temperature range of 24 – 28.5°C and relative humidity of 65 – 75% favours parasitoid multiplication. Beyond that multiplication decreases. The absence of parasitoid infestation at Saria and Katkalia might be due to natural barrier of river and mountain. However, nothing is known about the life - cycle of the parasitoid during summer or its alternate host.

Parasitisation behaviour of *X. pedator* has been reported by many workers (Jolly *et al.*, 1976; Singh, 1991) and it has been observed that a single fly can parasitize two to six silkworms (average three silkworm) each day. However, *X. pedator* lays only one egg in a host indicating that it can distinguish between parasitized and unparasitized host similar to *Venturia canescens* (Ozkan and Gurkan, 2001). Salt (1937), Hubbard *et al.* (1987), Volki and Mackauer (1990) and Van Alphen and Visser (1990) are of the opinion that this recognition is done through the application of external or internal markers at oviposition site. During host parasitization fly uses olfactory cues to locate host. Harrison *et al.* (1985) demonstrated that secretions from its Dufours gland are used as an external marker in *Ephestia kuehniella*. In *X. pedator* it appears that similar cues are used for its host identification.

X. pedator prefers final stage spinning silkworms as most suitable stage for parasitisation. Further observations indicate an interesting fact that it prefers male silkworms against females for parasitisation. The host instar specific parasitization has been reported in *Cotesia glomerata*, a hymenopteran parasitoid (Mattiacci and Dicke, 1995) but in case of *X. pedator* it is instar specific and also has characteristic preference for male sex. Several parasitoids exhibit a marked preference for a specific sex or instar larvae (McGregor, 1996).

In case of *X. pedator* the preference for male host seems to be due to a variety of reasons. In *A. mylitta* the spinning of male cocoons takes place earlier than females and thus being available, is easily parasitized by instar specific parasitoid, *X. pedator*. The tasar silkworm being a protoandrous insect, it causes discrete generation build up in reproductive period which facilitates parasitoid multiplication in a season. Thus preference of parasitisation for male silkworm by *X. pedator* is an adaptation for quick multiplication and survival of its offsprings. In addition, the male cocoons are thin shelled with less shell weight as compared to females of the respective crop, that are thick shelled with more shell weight. Obviously, it becomes easier for the emerging adult ichneumon fly to pierce its way out from the male cocoons thus increasing the chances of its survival and hence the preference for male sex. This preference leads to reversal of sex ratio in an infested host population thereby changing the normal grainage behaviour which is evident by poor pairing percentage and grainage performance.

REFERENCES

- HARRISON E.G, FISHER R.C., ROSS K.M. (1985) The temporal effect of Duffors gland secretion in host discrimination by *Nemeritis canescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38: 215-220.
- HUBBARD S.F, MARRIS G., REYNOLDS A., ROWE G.W.(1987) Adaptive patterns in the avoidance of super parasitism by solitary parasitic wasps. *Journal of Animal Ecology*, 56: 387-401.
- JOLLY M.S., SEN S. K., SONWALKAR T.N., PRASAD G. K. (1976) Parasites and Predators. FAO Manuals on Sericulture, Vol (4) Non - mulberry Silks, pp 67-70.
- MATTIACCI L., DICKE M. (1995) The parasitoid *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae) discriminates between first and fifth larval instars of its host *Pieris brassicae* on the basis of contact cues from frass, silk and herbivore-damaged leaf tissue; *Journal of Insect Behaviour*, 8(4): 485-497.
- MCGREGOR R.(1996) Phenotypic selection by parasitoids in the timing of life history in leaf mining moth. *Evolution*, 50(4): 1579-1584.
- OZKAN CEM, GURKAN M.O. (2001) Behavioral responses to parasitized and unparasitized hosts of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Turkish Journal of Entomology*, 25(3): 175-181.
- SALT G. (1937) The sense used by trichogramma to distinguish between parasitized and unparasitized hosts. *Proceedings of Royal Entomological Society of London*, 122: 57-75.
- SINGH K. C. (1991) Controlling the insect enemies of Oak silkworm. *Indian Silk*, 30(7): 19-23.
- VAN ALPHEN J.J.M., VISSER M.E.(1990) Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Reviews of Entomology*, 35: 232-260.
- VOLKI W., MACKAUER M. (1990) Age specific pattern of host discrimination by the aphid parasitoid *Ephedrus californicus* Baker (Hymenoptera: Aphididae). *Canadian Entomologist*, 122: 349-361.

PREFERENCE SEXUELLE DANS LE PARASITISME DE L'HOTE PAR *XANTHOPIMPLA PEDATOR* FABRICIUS (HYMENOPTERE : ICHNEUMONIDES), UN PARASITOÏDE MAJEUR DU VER A SOIE TASAR, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY

U. N. SINGH, RAJ NARAIN, D. CHAKRAVORTY* & P. N. TRIPATHI**

Basic Seed Multiplication and Training Centre, Boirdadar, Raigarh – 496 004, Chhattisgarh, Inde.

*Le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury est un insecte important en Inde, produisant de la soie, qui est attaqué par de nombreux parasites insectes et non insectes. On réalise l'élevage du ver à soie tasar à l'extérieur sur une plantation cultivée ou sur des plants poussant dans la nature de *Terminalia tomentosa* (W & A) et de *Terminalia arjuna* (Bedd.). L'infestation par la mouche Ichneumon, *Xanthopimpla pedator* Fabricius chez le tasar est courante, mais sa sévérité varie d'une année à l'autre et d'une saison à l'autre. Pendant l'année 2008, on a observé son infestation à un degré important et on a pris conscience de son impact sur la production de graines au Centre de base de Formation et de Multiplication des Graines (BSM&TC), de Boirdadar, Raigarh, Chhattisgarh, en Inde. On a donc procédé à une étude chez les deux écoraces du ver à soie tasar, c'est-à-dire Daba, la bivoltine (BV) et Daba, la trivoltine (TV) pendant les trois élevages dans six endroits différents, c'est-à-dire à Boirdadar, à Katkalia, à Chhapora, à Kudumkela, à Saria et à Kandola. En conséquence, le taux d'infestation est de 0,2 % et de 29,5 % respectivement pendant la troisième et la deuxième récolte chez la race Daba TV. Chez la population infestée, il y a toujours plus de cocons mâles par comparaison aux femelles, ce qui indique que *X. pedator* a une préférence sexuelle pour le mâle dans le parasitisme de l'hôte. Cette préférence conduit à un renversement du sex-ratio chez une population hôte infestée, ce qui change donc le comportement normal de grainage, comme le montrent les mauvais pourcentages d'accouplement et de performance de grainage.*

INTRODUCTION

Le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury achève son cycle de vie deux ou trois fois par an, en fonction des facteurs biotiques et abiotiques. En conséquence, la race est reconnue comme bivoltine ou trivoltine. La première récolte est entreprise pendant le mois de juin / juillet, la deuxième récolte en septembre / octobre et la troisième récolte pendant les mois de novembre / décembre. On sait que le ver à soie tasar, *A. mylitta* est parasité par *Blepharipa Zebina* Walker et par *Xantopimpla pedator* Fabricius, qui provoquent des dégâts à des degrés variables.

X. pedator, connu couramment comme la mouche ichneumon, est un parasitoïde majeur du ver à soie tasar, qui provoque des pertes importantes de chrysalides dans les grainages tasar, ce qui affecte sévèrement la production de graines. On dispose de beaucoup de documents sur l'infestation par la mouche ichneumon chez le ver à soie tasar (Jolly et coll., 1976). Sa bioécologie est toujours une énigme pour les chercheurs en sériciculture en Inde. Cependant, selon les maigres informations disponibles, elle commence son cycle de vie dans le corps du ver à soie tasar en enfouissant son

* Basic Tasar Silkworm Seed Organisation, Bilaspur – 495 001, Chhattisgarh, Inde.

**K. S. Saket, P. G. College, Ayodhya, U. P., Inde.

ovipositeur dans l'abdomen du ver à soie du 5^{ème} âge et pond un œuf à l'intérieur, quand le ver à soie commence la formation de son cocon. Au cours du développement, le ver à soie se transforme en chrysalide à l'intérieur du cocon et le parasitoïde se nourrit sur les tissus de la chrysalide et termine tous ses stades larvaires à l'intérieur, puis se transforme en pupa. Le parasitoïde se transforme en adulte dans la chrysalide et sort en perçant la partie antérieure du cocon, en faisant un trou caractéristique. Cet article est le résultat d'observations sur les mauvaises performances de grainage d'*A. mylitta* pendant l'année 2008-09 au Basic Seed Multiplication and Training Centre (BSM&TC) de Boirdadar, quand on a constaté que le taux d'émergence des papillons était très faible.

MATERIELS ET METHODES

Pendant l'année 2008-09, on a entrepris l'élevage des écoraces Daba bivoltines / trivoltines du ver à soie tasar au Basic Seed Multiplication and Training Centre (BSM&TC) de Boirdadar pendant les première, deuxième et troisième récoltes dans les fermes de Boirdadar, Chhapora, Kandola, Saria, Katkalia et Kudumkela. Ces fermes sont situées à environ 50 à 90 km de la ferme de Boirdadar dans la zone de Raigarh, dans l'état de Chhattisgarh. Le ver à soie tasar étant de nature sauvage, son élevage a été réalisé sur des plantations cultivées et sur des plants de *Terminalia arjuna* (Bedd) et de *Terminalia tomentosa* (W & A) poussant naturellement dans la nature. Après l'arrêt de l'élevage, on amène les cocons de grainage sélectionnés au laboratoire et on les conserve pour la production de graines.

On procède à l'évaluation des cocons après les opérations de grainage dans le stock sans diapause et pendant la dernière semaine de février chez le stock à diapause, quand l'émergence de la mouche ichneumon s'arrête. Dans ce but, on ouvre et on sexe un millier de cocons morts / n'ayant pas émergé dans chaque lot et on dissèque les chrysalides pour observer l'infestation par l'ichneumon, en comptant les cocons infestés. On trouve le parasitoïde à différents stades de son développement. On trouve aussi la mouche ichneumon adulte morte dans quelques cocons, ce qui indique qu'elle n'a pas pu s'échapper par la coque dure des cocons.

Les conditions climatiques des six lieux d'expériences sont plus ou moins similaires. Les valeurs moyennes de température et d'humidité relative pendant le mois d'août sont respectivement de 27,5° C et de 76,5 %, pendant le mois de septembre de 28,5° C et de 75,5 %, en Octobre de 24,5° C et de 65 %, en Novembre de 23,5° C et de 62 %, tandis qu'en décembre elles sont de 19,5° C et de 61 %.

RESULTATS

Les données sur l'infestation par la mouche ichneumon pendant les différentes récoltes en 2008-09 au BSM&TC de Boirdadar sont présentées dans le Tableau I.

L'évaluation des cocons morts de la première récolte de l'écorace bivoltine Daba révèle 6,7 % d'infestation par ichneumon à Boirdadar et 6,6 % dans le lot de Chhapora. Le pourcentage de cocons mâles infestés représente 71,6 % et 66,6 %, tandis que celui des cocons femelles est de 28,4 % et 33,4 % dans les lots respectifs.

L'infestation par l'ichneumon en fonction du sexe (mâle : femelle) pendant l'élevage de la deuxième récolte trivoltine est de 68,6 % : 31,4 % à Boirdadar, tandis qu'elle est de 64,7 : 35,3 dans le lot de Kudumkela. Cependant, le nombre total de cocons infestés dans ces lots s'avère être respectivement de 13,4 % et de 29,5 %.

Pendant l'élevage de la deuxième récolte bivoltine, on enregistre 11,70 % d'infestation par l'ichneumon à Boirdadar, 3,9 % à Kandola, tandis qu'on n'enregistre pas d'infestation dans le lot de Saria. Dans le lot de Boirdadar, 63,2 % des cocons infestés s'avèrent être des mâles, tandis que 36,8 %

des cocons sont des femelles. De même, sur l'ensemble de 3,9 % de cocons infestés, 79,4 % des cocons sont des mâles, contre 20,6 % de femelles dans le lot de Kandola.

Pendant l'élevage de la troisième récolte trivoltine, l'infestation ichneumon est très faible, c'est à dire, 0,2 % dans le lot de Boirdadar et 5,9 % dans le lot de Kudumkela. Sur tous les cocons infestés, 64,4 % des cocons sont mâles, tandis que 35,6 % sont des femelles.

L'évaluation des cocons de grainage révèle que les poids des cocons et des coques des mâles sont inférieurs par comparaison à ceux des femelles dans toutes les récoltes (Tableau II). Les cocons mâles sont donc plus légers en poids avec une coque fine, tandis que les femelles sont plus lourdes avec une coque épaisse.

L'infestation par la mouche ichneumon est de 6,7 % chez les cocons filés pendant le mois d'août, de 13,4 à 29,5 % en Septembre, de 3,9 à 11,7 % en Octobre et de 0,2 à 5,9 % en Décembre.

DISCUSSION

Il est évident d'après les observations que *X. pedator* est un parasitoïde majeur du ver à soie tasar, *A. mylitta*. On observe ces mouches dans les champs d'élevage de juillet à février. Son infestation chez *A. mylitta* commence au mois de juillet pendant la première saison de récolte et continue de la deuxième à la troisième saison de récolte et se termine en février, quand l'hôte subit la diapause. Cependant, le degré de dégâts qu'elle provoque varie d'une saison à l'autre et d'un endroit à l'autre. On trouve sa population la plus importante pendant la deuxième saison de récolte, c'est-à-dire pendant les mois de septembre et d'octobre, qui semble être sa période pic de parasitisme. Cela indique clairement que la fourchette de température de 24 à 28,5° C et d'humidité relative de 65 à 75 % favorise la multiplication du parasitoïde. Ensuite, la multiplication baisse. L'absence d'infestation par le parasitoïde à Saria et Katkali pourrait être due à la barrière naturelle de la rivière et de la montagne. Cependant, on ne connaît rien du cycle de vie du parasitoïde pendant l'été ou sur un hôte alternatif.

De nombreux chercheurs ont étudié le comportement de parasitisme de *X. pedator* (Jolly et coll., 1976 ; Singh, 1991) et on a observé qu'une mouche unique peut parasiter deux à six vers à soie (moyenne de trois vers à soie) chaque jour. Cependant, *X. pedator* ne pond qu'un œuf chez un hôte, ce qui indique qu'il peut distinguer entre un hôte parasité et non parasité comme *Venturia canescens* (Ozkan et Gurkan, 2001). Salt (1937), Hubbard et coll., (1987), Volki et Mackauer (1990) et Van Alphen et Visser (1990) pensent que cette reconnaissance se fait par l'application de marqueurs externes au site d'oviposition. Pendant le parasitisme, la mouche utilise des signaux olfactifs pour localiser l'hôte. Harrison et coll., (1985) ont démontré que chez *Ephestia kuehniella* les sécrétions de sa glande Dufours sont utilisées comme un marqueur externe. Chez *X. pedator*, il semble que des signaux similaires soient utilisés pour l'identification de l'hôte.

X. pedator préfère les vers à soie du dernier âge, qui filent, comme stade d'infestation. De manière intéressante, les observations ultérieures indiquent qu'il préfère les vers à soie mâles aux femelles. Chez *Cotesia glomerata*, un parasitoïde hyménoptère, on a signalé un parasitisme spécifique à l'âge de l'hôte (Mattiacci et Dicke, 1995) mais dans le cas de *X. pedator*, il est spécifique à l'âge et présente une préférence caractéristique pour le sexe mâle. Plusieurs parasitoïdes présentent une préférence marquée pour un sexe ou un âge spécifiques des larves (McGregor, 1996).

Dans le cas de *X. pedator*, la préférence pour l'hôte mâle semble être due à un ensemble de raisons. Chez *A. mylitta*, le filage des cocons mâles a lieu plus tôt que chez les femelles et comme ils sont disponibles, ils sont facilement parasités par le parasitoïde spécifique à l'âge, *X. pedator*. Le ver à soie tasar étant un insecte protoandrique, cela entraîne une augmentation discrète pendant la période reproductive, qui facilite la multiplication du parasitoïde pendant une saison. La préférence pour le ver à soie mâle par *X. pedator* est une adaptation pour la multiplication rapide et la survie de sa descendance. De plus, les cocons mâles ont une coque fine, avec un poids de coque moins élevé par comparaison aux femelles de la récolte respective, qui ont une coque épaisse, avec un poids de coque

plus élevé. Evidemment, il devient plus facile pour la mouche adulte ichneumon qui émerge de sortir en perçant les cocons mâles, ce qui augmente donc ses chances de survie et donc explique la préférence pour le sexe mâle. Cette préférence entraîne un renversement du sex-ratio dans une population hôte infestée, ce qui change donc le comportement normal de grainage, comme le montrent les mauvais pourcentages d'accouplement et de performance de grainage.

A REVIEW ON INFLUENCE OF WATER QUALITY ON REELING PERFORMANCE AND QUALITY OF RAW SILK

ASWATHA REDDY¹, K.N.MAHESH² & S. T. VENU³

1, 2, 3. Central Silk Technological Institute, Central silk Board, B.T.M.Layout, Madivala, Bangalore -560068, India

INTRODUCTION

Different reeling systems exist in the field for reeling of Mulberry cocoons in different reeling clusters. The water characteristics vary from unit to unit in the same reeling cluster and also among different clusters. It is impossible to find water of similar characteristics in different reeling units. To understand the distribution of water characteristics in different reeling units and its influence on reeling performance and quality characteristics of raw silk water & raw silk samples collected from the reeling units have been tested. Investigation was conducted in different reeling units covering different reeling systems such as Cottage basin, Domestic basin & Multiend reeling systems in important reeling clusters of Karnataka, India where more than 70% raw silk is produced. The data is classified under different categories by way of frequency distribution. The actual influence of water characteristics on reeling process performance & quality of raw silk has been investigated & analysed. The information generated will help the reeling industry in suitable technological interventions for further development.

Keywords: Hardness, pH, Alkalinity, Cooking time, Cooking degree, Groping %, Pelade weight, Reeling speed, Thread troubles, Temperature, Croissure length.

Water quality:

It has been established by different reeling experts that the water quality influences the reeling performance to an extent of 10%, reeling device to an extent of 80% & skill to an extent of 10 %. Though numbers of investigations were made in the past to the effect of water quality on reeling performance & quality of raw silk no systematic study has been made in the different reeling systems in India such as Cottage basin, Domestic basin & Multiend reeling units.

B. H. Kim (Chapter 10, pages no.115-120) has opined that it is impossible to assess the reeling results by only knowing the properties of the water because filature process is a complicated operation with a number of factors involved such as the type of cocoons used, machines used, the different temperature of working baths & pressure, and concentration of organic matter in the baths etc which all influence raw silk processing. However the water properties influence characteristics such as Cleanness %, Neatness %, tenacity, elongation, Cohesion, lustre, hand and reelability %, Thread breaks, Silkwaste %, Sericin solubility to some extent.

Further D. Mahadevappa *et al.* (Page no. 154) in their book titled "Mulberry silk reeling technology" have discussed about the influence of water properties on reeling process & quality characteristics of raw silk who also have elicited almost similar opinion to that of B.H.Kim.

MATERIALS AND METHODS

1. Raw material:

The study was conducted in the units where Indian Multibivoltine hybrid cocoons PM × CSR2 are reeled in the reeling units.

2. Drying conditions:

Existing stifling methods in the units viz. Steam stifling, partial drying (90° C, 1Hr.) were considered for the study.

3. Cocoon cooking:

Open pan cooking method which is the widely employed method in Indian silk reeling units is considered for the study. Cooking temperatures & duration practiced in the units are as below.

Reeling system	Average cooking time	Temperature Range
Multiend	87 sec.	85-95° C
Cottage basin	73 sec	87-96° C
Domestic basin	92 sec	89-96° C

Brushing condition:

In almost all the reeling units the cocoons are brushed at 80-85° C using paddy husks, wooden stick and metallic sticks.

4. Reeling systems:

The study is conducted in the Multiend, Cottage basin and Domestic basin reeling units with the existing process parameters. Reeling process parameters recorded from the units are as below.

Parameters	Multiend	Cottage basin	Domestic basin
Reeling speed (m/min)	153	281	260
Temperature (Reeling basin)	38- 45° C	40-47° C	38-47° C
Croissure Length (cms)	3-14	0-20	7-30

Water characteristics in the reeling units of Ramanagaram and Sidlaghatta:

In the present study water samples collected from 24 Multi end reeling units, 12 cottage basin reeling units & 26 domestic basin reeling units have been tested for important characters such as Hardness (ppm), PH., Alkalinity and have been grouped in the form of frequency distribution. Simultaneously the reeling process parameters have been recorded; raw silk samples are collected and tested for quality characteristics.

The distribution of important water properties of samples collected from the different reeling units in the two major reeling clusters of Ramanagaram& Sidlaghatta is shown graphically below.

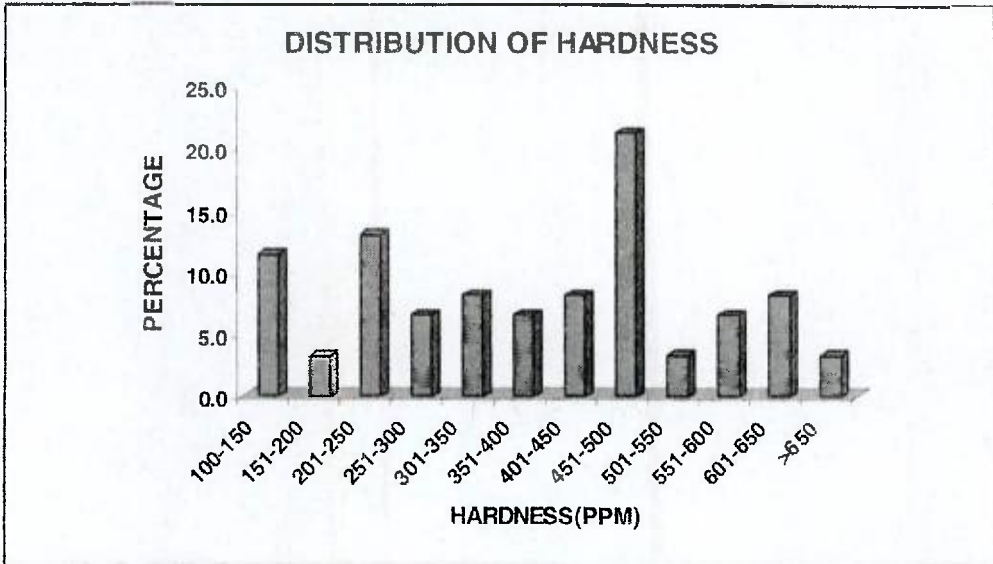


Fig 1. Distribution of hardness.

Fig. 1. Distribution de la dureté.

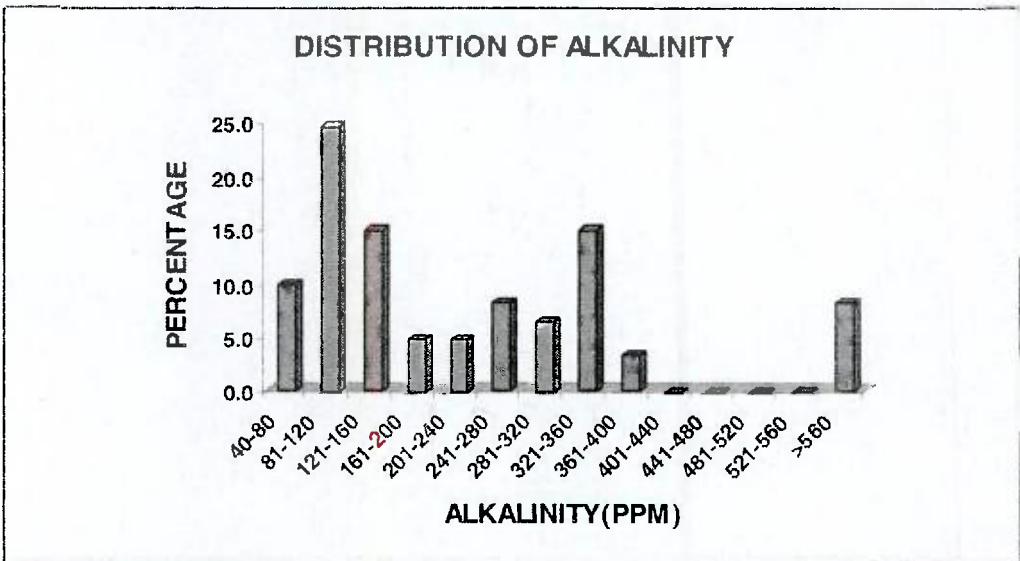


Fig. 2. Distribution of alkalinity.

Fig. 2. Distribution de l'alcalinité.

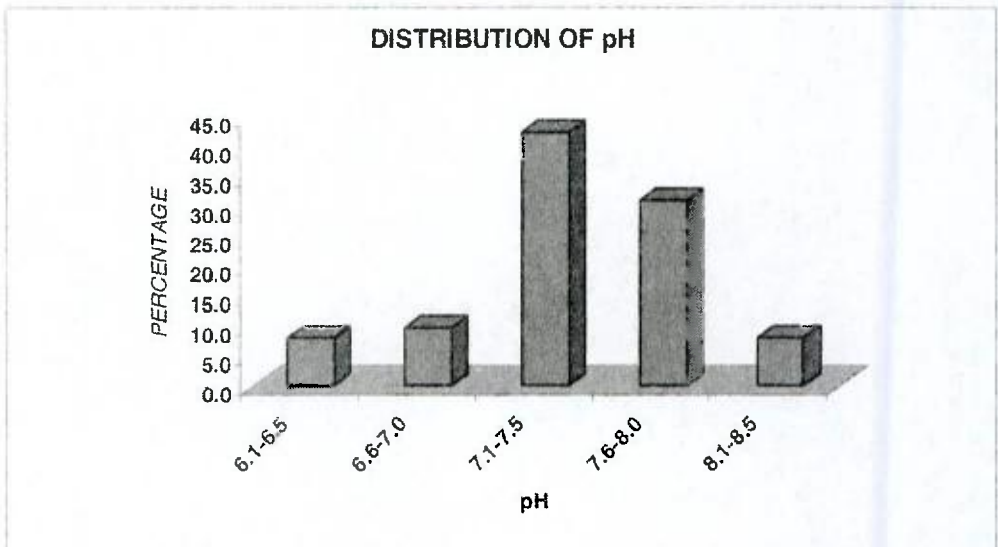


Fig. 3. Distribution of pH.

Fig. 3. Distribution du pH.

Further the comparison of water characters between the two clusters is represented in figs.4-6.

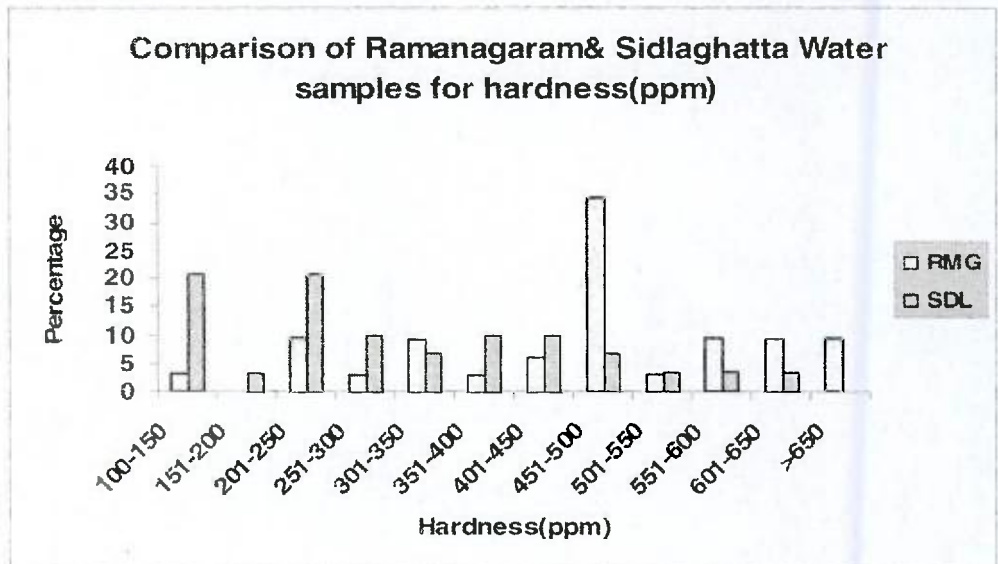


Fig. 4. Comparison of Ramanagaram & Sidlaghatta water samples for hardness (ppm).

Fig. 4. Comparaison des échantillons d'eau de Ramanagaram et de Sidlaghatta par rapport à leur dureté (ppm).

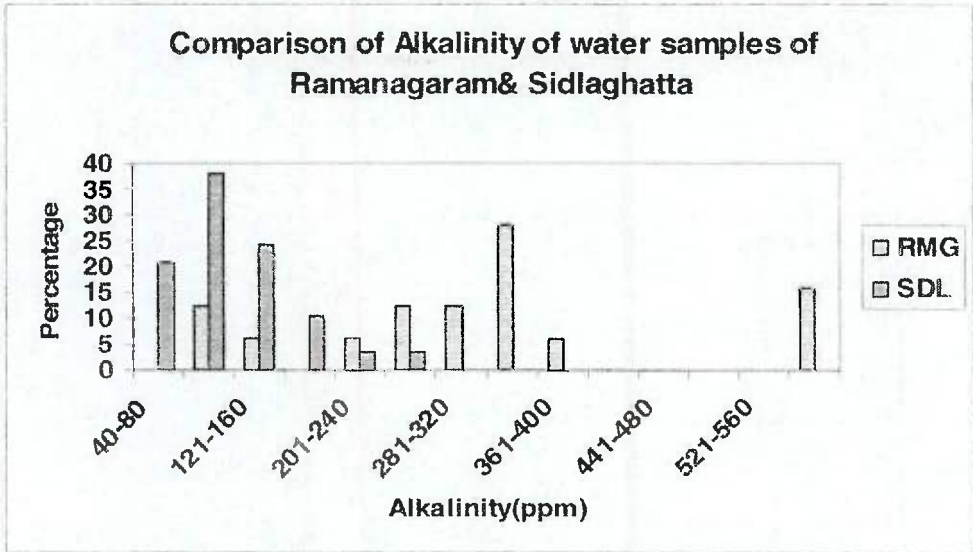


Fig. 5. Comparison of alkalinity of water samples of Ramanagaram & Sidlaghatta.

Fig. 5. Comparaison de l'alcalinité des échantillons d'eau de Ramanagaram et de Sidlaghatta.

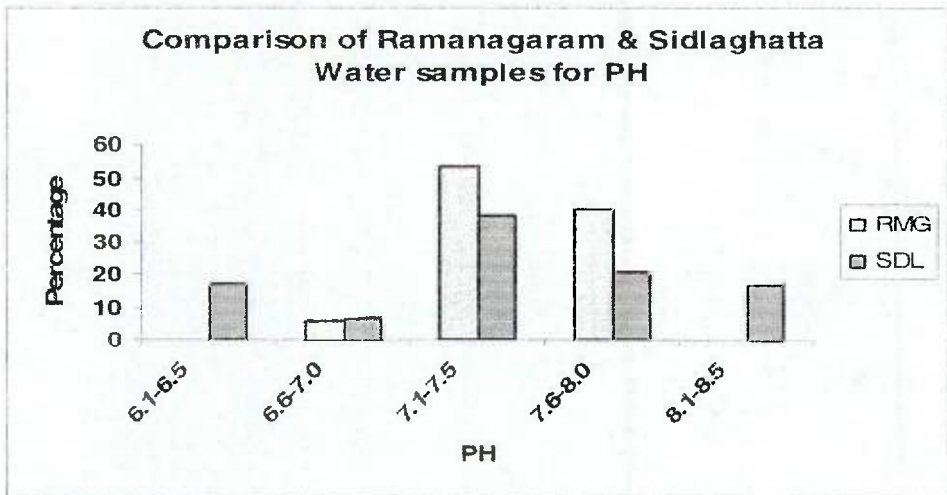


Fig. 6. Comparison of Ramanagaram & Sidlaghatta water samples for pH.

Fig. 6. Comparaison du pH des échantillons d'eau de Ramanagaram et de Sidlaghatta.

From fig. 4 it is observed that around 65% water samples of Ramanagaram have hardness more than 450ppm whereas 50% of Sidlaghatta samples have hardness less than 300ppm. Further from figs.5, it is observed that Ramanagaram water samples have more alkalinity as compared to Sidlaghatta samples. Undoubtedly because of this difference in water properties Ramanagaram silk has more tenacity as compared to Sidlaghatta, Groping efficiency of cocoons in Sidlaghatta is higher compared to Ramanagaram.

Influence of water properties in cooking process:

The correlation between cooking time, cooking degree, groping efficiency %, Silk waste % in cooking process & water properties has been studied in the reeling units. The correlation coefficients are shown in Table I.

Table. I. Simple correlation between water properties & cooking process.

Tableau I. Corrélation simple entre les propriétés de l'eau et le processus de cuisson.

	Cooking time	Cooking degree	Waste %	Groping %	Hardness	Alkalinity	pH
	<i>Durée de cuisson</i>	<i>Degré de cuisson</i>	<i>% de déchets</i>	<i>% de purgeage</i>	<i>Dureté</i>	<i>Alcalinité</i>	
Cooking time <i>Durée de cuisson</i>	1	-220 ^{NS}	-0.041 ^{NS}	-0.117 ^{NS}	0.322 ^{NS}	0.036 ^{NS}	-0.141 ^{NS}
Cooking degree <i>Degré de cuisson</i>		1	0.317 ^{NS}	0.629 ^{**}	-0.651 ^{**}	-0.658 ^{**}	0.024 ^{NS}
Waste % <i>% de déchets</i>			1	-0.024 ^{NS}	-0.360 ^{NS}	-0.218 ^{NS}	0.396 ^{NS}
Groping % <i>% de purgeage</i>				1	-0.621 ^{**}	-0.510 [*]	-0.002 ^{NS}
Hardness / <i>Dureté</i>					1	0.676 ^{**}	-0.193 ^{NS}
Alkalinity / <i>Alcalinité</i>						1	0.114 ^{NS}
pH							1

From the correlation analysis it is observed that as cooking degree increases Groping % of the filaments in the cooking process increases. The cooking degree in turn is dependant on Hardness & Alkalinity of water. It is observed that as the Hardness & alkalinity of water decreases cooking degree has increased. Cooking degree denotes the amount of water penetrated into all the layers of cocoons. Hence when cooking degree increases the Sericin softening & swelling increases. This will yield better unraveling of the filaments resulting in higher Groping efficiency. The water properties do not have significant influence on cooking time and silk waste %.

Influence of water properties in reeling process:

The correlation between water properties and pelade weight, thread troubles in reeling is shown in Table II.

From Table no. II it is observed that water properties do not have any influence on the process performance indicators in the reeling process. The thread troubles are influenced by combination of various factors such as nature of sericin in the cocoons, reeling speed, reeling tension, condition of the surface in the thread passage from button to reel etc. Also the pelade weight is dependant on the nature of Sericin in the inner most layers of the cocoons.

Table. II.

Tableau II.

	Hardness	Alkalinity	PH	Thread Troubles	Pelade weight
	<i>Dureté</i>	<i>Alcalinité</i>		<i>Problèmes de fil</i>	<i>Poids de la pélette</i>
Hardness/ <i>Dureté</i>	1	0.820**	-0.216 ^{NS}	0.071 ^{NS}	0.037 ^{NS}
Alkalinity/ <i>Alcalinité</i>		1	0.207 ^{NS}	-0.003 ^{NS}	-0.061 ^{NS}
PH			1	-0.071 ^{NS}	-0.007 ^{NS}
Thread Troubles/ <i>Problèmes de fil</i>				1	0.112 ^{NS}
Pelade weight / <i>Poids de la pélette</i>					1

Influence of water properties on quality characteristics of raw silk:

Raw silk samples from the reeling units were collected and tested for quality characteristics. The influence of water properties on the quality characteristics such as Cleanness%, Neatness%, tenacity, Elongation %, cohesion is shown in Table no. III.

From Table III it is observed that Hardness & Alkalinity do not have influence on Cohesion, Cleanness & Neatness %. PH also does not have any influence on Tenacity, Elongation, Cohesion, Cleanness and Neatness %. However as Hardness & Alkalinity increase Tenacity has increased. Further as Alkalinity increases Elongation of the raw silk has decreased.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The data generated to find the influence of water properties on reeling process & quality of raw silk are being examined herewith in the context of the findings of the authors mentioned above.

When permanent hardness is Low

As reported elongation has not decreased as hardness decreases. Further there is no tendency in decrease of Cohesion as hardness decreases.

Table III.

Tableau III.

	Hardness <i>Dureté</i>	Alkalinity <i>Alcalinité</i>	PH	Tenacity <i>Résistance</i>	Elongation % % <i>d'allongement</i>	Cohesion	Cleanness % % <i>de propreté</i>	Neatness % % <i>de netteté</i>
Hardness <i>Dureté</i>	1	.594(**)	-0.249	.408(*)	- 0.319	0.256	- 0.346	- 0.018
Alkalinity <i>Alcalinité</i>		1	0.272	.548(**)	- .578(**)	0.302	- 0.221	0.281
PH			1	0.17	- 0.232	- 0.041	0.063	0.012
Tenacity <i>Résistance</i>				1	- .646(**)	0.065	- .533(**)	0.276
Elongation % % <i>d'allongement</i>					1	0.12	0.123	- 0.24
Cohesion						1	- 0.158	- 0.074
Clean % % <i>de propreté</i>							1	- 0.128
Neatness % % <i>de netteté</i>								1

When permanent hardness is high:

Tendency in increase of cooking time as hardness increases but it is not conclusive. Similarly there are no noticeable changes in increase of Frisens, Pellade waste but Groping efficiency has decreased as hardness increases.

When PH is Low:

As reported Tenacity, cohesion & pelade waste have not increased when PH is low. Also groping efficiency has not reduced when PH is low.

When PH is high:

Cleanness has not decreased when PH is high. Further Tenacity, Elongation, Cohesion has not decreased when PH is high.

When Alkalinity is Low:

There is no increase of cooking time & increase of silk waste% when alkalinity is low.

When Alkalinity is high:

Tenacity has increased; elongation has reduced whereas there is no tendency in decrease of Cohesion when alkalinity is high. Further cleanness has not decreased when Alkalinity has increased.

CONCLUSION

From the above discussion it can be concluded that the influence of water properties on all the reeling parameters & quality characteristics is not that significant. The influence is significant only in respect of Hardness on Cooking degree & Groping efficiency (-ve correlation), Hardness on Tenacity (+ve), Alkalinity on Cooking degree & Groping efficiency (-ve), Alkalinity on elongation (-ve). But as reported (i) increase in Alkalinity has not resulted in decrease of Tenacity, Cohesion & Cleanness (ii) decrease in PH has not resulted in increase of Tenacity, elongation & cohesion (iii) decrease in hardness has not resulted in decrease of Elongation & Cohesion. These findings are not in total conformity with the report in the texts leading to the conclusion that these non-conforming items might have been influenced more by Cocoon characteristics, process parameters than by the properties of water alone.

REFERENCES

- D. MAHADEVAPPA, V.G.HALLIYAL, D.G.SHANKAR, RAVINDRA BANDIWAD "Mulberry Silk Reeling Technology" (2000) - (Page no.154)-Oxford & IBH Publishing Co.Pvt. Ltd., New Delhi-Calcutta
- B.H.KIM (KIM,BYUNG-HO) " FILATURE WATER ENGINEERING"(1989) ,Second edition Management of Silk reeling water by Ravindra Bandiwad et al., Indian Textile Journal,1994
- Silk Reeling, Chief editor Huang Guo Rui,December 1997
- Hand Book of silk technology by Tammanna N.Sonwalkar,1993

REVUE SUR L'INFLUENCE DE LA QUALITE DE L'EAU SUR LA PERFORMANCE DE DEVIDAGE ET SUR LA QUALITE DE LA SOIE GREGE

ASWATHA REDDY¹, K. N. MAHESH & S. T. VENU³

1, 2, 3. Central Silk Technological Institute, Central Silk Board, B. T. M. Layout, Madivala, Bangalore – 560 068, Inde.

INTRODUCTION

Il existe différents systèmes de dévidage pour dévider les cocons mûrier dans différents groupements de dévidage. Les caractéristiques de l'eau varient d'une unité à l'autre dans le même groupement de dévidage et aussi entre les différents groupements. Il est impossible de trouver de l'eau aux caractéristiques similaires dans les différentes unités de dévidage. Pour comprendre la distribution des caractéristiques de l'eau dans différentes unités de dévidage et son influence sur la performance de dévidage et sur les caractéristiques de qualité de la soie grège, on a testé des échantillons d'eau et de soie grège recueillis dans des unités de dévidage. L'étude a été réalisée dans différentes unités de dévidage utilisant différents systèmes de dévidage, tels que les systèmes de dévidage avec bassine artisanale, avec bassine domestique et multibouts dans des groupements importants de dévidage dans le Karnataka, en Inde où plus de 70 % de la soie grège est produite. Les données ont été classées en différentes catégories, en fonction de la fréquence de distribution. On a étudié et analysé l'influence réelle des caractéristiques de l'eau sur la performance de dévidage et sur la qualité de la soie grège. Les informations générées permettront à l'industrie du dévidage de procéder aux interventions technologiques adaptées pour le développement dans le futur.

Qualité de l'eau :

Différents experts de dévidage ont constaté que la qualité de l'eau influence la performance de dévidage de l'ordre de 10 %, le système de dévidage de l'ordre de 80 % et la technique de l'ordre de 10 %. Bien qu'un certain nombre d'études aient été réalisées par le passé sur l'effet de la qualité de l'eau sur la performance de dévidage et sur la qualité de la soie grège, aucune étude systématique n'a été réalisée avec les différents systèmes de dévidage en Inde, tels que dans les unités de dévidage pour bassines artisanales, pour bassines domestiques et multibouts.

Selon B. H. Kim (Chapitre 10, pages 115 à 120), il est impossible d'évaluer les résultats de dévidage en ne connaissant que les propriétés de l'eau parce que le processus de la filature est une opération compliquée, qui implique un certain nombre de facteurs, tels que le type de cocons utilisés, les machines utilisées, les différentes températures des bains de travail, la pression et la concentration de la matière organique dans les bains etc., qui influencent tous la transformation de la soie grège. Cependant, les propriétés de l'eau influencent les caractéristiques telles que le % de propreté, le % de netteté, la résistance, la cohésion, le lustre, la main, le % de dévidabilité, les ruptures du fil, le % de déchets de soie et la solubilité de la sérécine dans une certaine mesure.

De plus, D. Mahadevappa et coll., (page no. 154) dans leur livre intitulé « Mulberry silk reeling technology » ont évoqué l'influence des propriétés de l'eau sur le processus de dévidage et sur les caractéristiques de dévidage de la soie grège et ont aussi émis une opinion presque similaire à celle de B. H. Kim.

MATERIELS ET METHODES

1. Matière première :

L'étude a été réalisée dans des unités de dévidage où on dévide les cocons hybrides polyvoltins indiens PM × CSR2.

2. Conditions de séchage :

Pour l'étude, on prend en compte les méthodes d'étouffage existantes dans les unités, c'est-à-dire l'étouffage à la vapeur, le séchage partiel (90° C, 1 heure).

3. Cuisson des cocons :

On prend en compte la méthode de cuisson ouverte à la bassine qui est une méthode largement employée dans les unités indiennes de dévidage de la soie. Les températures et les durées de cuisson pratiquées dans les unités sont les suivantes :

Système de dévidage	Temps de cuisson moyen	Fourchette de températures
Multibouts	87 sec.	85- 95° C
Bassine artisanale	73 sec	87 -96 ° C
Bassine domestique	92 sec.	89 -96 ° C

Conditions de purgeage :

Dans presque toutes les unités de dévidage, on purge les cocons à 80–85° C en utilisant des balles de riz, des bâtons en bois et des bâtons métalliques.

4. Systèmes de dévidage :

L'étude est réalisée dans les unités de dévidage multibouts, avec bassine artisanale et bassine domestique avec les paramètres de méthode existants. Les paramètres enregistrés dans les unités pour la méthode de dévidage sont les suivants.

Paramètres	Multiextrémité	Bassine artisanale	Bassine domestique
Vitesse de dévidage (m / min)	153	281	260
Température (bassine de dévidage)	38-45° C	40- 47° C	38 - 47° C
Longueur de croisure (cm)	3-14	0-20	7-30

Caractéristiques de l'eau dans les unités de dévidage de Ramanagaram et de Sidlaghatta :

Dans cette étude, on teste les caractères importants tels que la dureté (ppm), le pH, l'alcalinité des échantillons d'eau recueillis auprès de 24 unités de dévidage multibouts, de 12 unités de dévidage à bassine artisanale et de 26 unités de dévidage à bassine domestique et on les regroupe sous la forme de la fréquence de distribution. Simultanément, on enregistre les paramètres pour le processus de dévidage, on recueille les échantillons de soie grège et on teste leurs caractéristiques de qualité.

La distribution des propriétés importantes de l'eau pour les échantillons recueillis dans les différentes unités de dévidage dans les deux principaux groupes de dévidage de Ramanagaram et Sidlaghatta est présentée dans le graphique ci-dessous.

De plus, la comparaison des caractéristiques de l'eau entre les deux groupes est représentée dans les figs. 4 à 6.

D'après la fig. 4, on observe qu'environ 65 % des échantillons d'eau de Ramanagaram ont une dureté de plus de 450 ppm, tandis que 50 % des échantillons de Sidlaghatta ont une dureté de moins de 300 ppm. Par ailleurs, d'après la fig.5, on observe que les échantillons d'eau de Ramanagaram ont plus d'alcalinité par comparaison aux échantillons de Sidlaghatta. Sans aucun doute, en raison de cette différence des propriétés de l'eau, la soie de Ramanagaram a plus de résistance par comparaison à celle de Sidlaghatta et l'efficacité de purgeage des cocons de Sidlaghatta est supérieure par comparaison à celle de Ramanagaram.

Influence des propriétés de l'eau sur le processus de cuisson :

On a étudié la corrélation entre le temps de cuisson, le degré de cuisson, le % d'efficacité de purgeage, le % de déchets de soie et les propriétés de l'eau pendant le processus de cuisson dans les unités de dévidage. Les coefficients de corrélations sont présentés dans le Tableau I.

D'après l'analyse de corrélation, on observe que lorsque le degré de cuisson augmente, le % de purgeage des filaments pendant le processus de cuisson augmente. Le degré de cuisson est à son tour dépendant de la dureté et de l'alcalinité de l'eau. On observe que lorsque la dureté et l'alcalinité de l'eau diminuent, le degré de cuisson augmente. Le degré de cuisson indique la quantité d'eau qui pénètre dans toutes les couches des cocons. Quand le degré de cuisson augmente, l'amollissement et le gonflement de la séricine augmentent donc. Cela donnera un meilleur démêlage des filaments, ce qui entraîne une efficacité de purgeage supérieure. Les propriétés de l'eau n'ont pas d'influence significative sur le temps de cuisson et sur le % de déchets.

Influence des propriétés de l'eau dans le processus de dévidage :

La corrélation entre les propriétés de l'eau et le poids de la pélette, les problèmes de fil au cours du dévidage sont présentés dans le Tableau II.

D'après le Tableau II, on observe que les propriétés de l'eau n'ont pas d'influence sur les indicateurs de performance de la méthode, tels que la nature de la séricine dans les cocons, la vitesse de dévidage, la tension de dévidage, la condition de la surface dans le passage du fil de la filière au guindre, etc.. pendant le processus de dévidage. Le poids de la pélette dépend aussi de la nature de la séricine dans les couches les plus internes des cocons.

Influence des propriétés de l'eau sur les caractéristiques de la qualité de la soie grège :

On recueille et on teste les échantillons de soie grège des unités de dévidage et on teste leurs caractéristiques de qualité. L'influence des propriétés de l'eau sur les caractéristiques de qualité telles que le % de propreté, le % de netteté, la résistance, le % d'allongement, la cohésion est présentée dans le Tableau III.

D'après le Tableau III, on observe que la dureté et l'alcalinité n'ont pas d'influence sur le % de cohésion, de propreté et de netteté. Le pH n'a pas non plus d'influence sur le % de résistance, d'allongement, de cohésion et de propreté. Cependant, alors que la dureté et l'alcalinité augmentent, la résistance augmente. Par ailleurs, alors que l'alcalinité augmente, l'allongement de la soie grège diminue.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données obtenues pour trouver l'influence des propriétés de l'eau sur le processus de dévidage et sur la qualité de la soie grège sont examinées ici dans le contexte des résultats des auteurs mentionnés plus haut.

Quand la dureté permanente est faible :

Comme on l'a signalé, l'allongement ne baisse pas lorsque la dureté baisse. Par ailleurs, il n'y a pas de tendance à la baisse de la cohésion, lorsque la dureté baisse.

Quand la dureté permanente est élevée :

Il y a une tendance à l'augmentation du temps de cuisson, lorsque la dureté augmente, mais elle n'est pas définitive. De même, il n'y a pas de changements remarquables dans l'augmentation des frisons, des déchets de pélette, mais l'efficacité de purgeage diminue lorsque la dureté augmente.

Quand le PH est faible :

Comme on l'a signalé, quand le pH est faible, la résistance, la cohésion et les déchets de pélette n'augmentent pas. L'efficacité de purgeage n'a pas non plus diminué quand le pH est faible.

Quand le pH est élevé :

La propreté ne diminue pas quand le pH est élevé. Par ailleurs, quand le pH est élevé, la résistance et l'allongement ne diminuent pas.

Quand l'alcalinité est faible :

Quand l'alcalinité est faible, il n'y a pas d'augmentation du temps de cuisson et d'augmentation du % de déchets,.

Quand l'alcalinité est élevée :

Quand l'alcalinité est élevée, la résistance augmente, l'allongement diminue, tandis qu'il n'y a pas de tendance à la baisse de la cohésion. Par ailleurs, quand l'alcalinité augmente, la propreté ne diminue pas.

CONCLUSION

D'après la discussion ci-dessus, on peut conclure que l'influence des propriétés de l'eau sur tous les paramètres de dévidage et les caractéristiques de qualité n'est pas si significative. L'influence n'est significative que pour la dureté sur le degré de cuisson et sur l'efficacité de purgeage (corrélation négative), la dureté sur la résistance (positive), l'alcalinité sur le degré de cuisson et l'efficacité de purgeage (négatives), l'alcalinité sur l'allongement (négative). Mais, comme on l'a signalé (i), l'augmentation de l'alcalinité n'a pas entraîné de baisse de la résistance, de la cohésion et de la propreté, (ii) la diminution du pH n'a pas entraîné d'augmentation de la résistance, de l'allongement et de la cohésion, (iii) la diminution de la dureté n'a pas entraîné de baisse de l'allongement et de la cohésion. Ces résultats ne sont pas en conformité totale avec le rapport évoqué dans le texte qui a conclu que ces aspects non conformes pourraient avoir plus été influencés par les caractéristiques des cocons et par les paramètres du processus qu'uniquement par les propriétés de l'eau.

STUDIES ON THE RESIDUAL EFFECT OF NUTRIENT INPUTS ON MULBERRY WITH SPECIAL EMPHASIS ON THE GRADIENT APPLICATION OF PHOSPHORUS

R. KAR, P. C. BOSE AND A. K. BAJPAI

Soil Science and Chemistry Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore – 742101, West Bengal, India

The experiment conducted under irrigated condition at Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore – 742101, West Bengal, India revealed that the graded doses of P_2O_5 (0, 45, 90, 135 and 180 kg ha⁻¹ year⁻¹) along with 336 kg N ha⁻¹ year⁻¹, 112 kg K₂O ha⁻¹ year⁻¹ and 20 t FYM ha⁻¹ year⁻¹ applied to mulberry during the previous three years (2000-2003) recorded significant residual effect on leaf and shoot yields of succeeding mulberry crops for two years (2003-2005). Maximum residual effect was observed with the application of 180 kg P_2O_5 ha⁻¹ year⁻¹ that resulted in marked differences in leaf and shoot yields of succeeding mulberry crops. Higher leaf and shoot yields were recorded with each increment of P_2O_5 upto 180 kg ha⁻¹ year⁻¹. Soil analysis after two years of succeeding mulberry cultivation without any fertilization resulted in a negative balance of 68.23 to 118.60, 7.21 to 17.17 and 38 to 90 kg ha⁻¹ of available N, P_2O_5 and K₂O, respectively. The residual effect of nutrients on mulberry has not been studied earlier.

Keywords : Residual effect, graded doses, phosphorus, productivity, nutrient balance.

INTRODUCTION

The existing system of fertilizer management in mulberry cultivation is based on the nutrient requirement of mulberry, ignoring the carry-over effect of fertilizer applied to the preceding years. Indications are available of saving some fertilizer, if fertilizer management is done properly for mulberry. Residual effect may be more pronounced for organic manures. Organic and inorganic sources of nutrients applied to the preceding crops benefit the succeeding crops to a great extent (Hegde, 1998) and the system productivity becomes sustainable through integrated use of organic and inorganic sources of nutrients (Singh and Yadav, 1992). It would be relevant to mention that Sieling *et al.* (2006) quantified the residual effects of slurry and mineral N fertilizer in a winter oilseed grape – winter wheat – winter barley rotation on a *luvisol* at Hohenschulen in Germany on long term basis and obtained encouraging results in terms of growth, yield, nutrient uptake as well as nutrient balance in soil.

Moreover, lesser lability of $H_2PO_4^-$ than NO_3^- and K^+ ions within the soil system exerts the special significance of phosphatic fertilizer in terms of its carry-over effect. Greater soil efficiency factor of phosphorus over nitrogen and potassium further substantiates the earlier postulation (Bose *et al.*, 2006). Contextually, Hunter *et al.* (1961) evaluated the residual available P fraction in an Owyhee silt loam soil under a six-year crop rotation of barley – alfalfa – corn – sugar beet. Besides, report on the effects of organic and inorganic fertilizer on the subsequent ratoon crops of sugarcane (Bokhtiar *et al.*, 2008) confirms the carry-over effects of N, P, K, S and Zn application on growth, yield as well as juice quality of the crop concerned along with concomitant nutrients build-up in soil.

With this background and as no study regarding the residual effect of fertilizers and manure has so far been conducted in response to mulberry therefore, the present investigation was undertaken to

study the residual effect of inorganic and organic sources of nutrients applied to mulberry on the performance of succeeding mulberry crops. In light of the greater efficiency of soil phosphorus as mentioned above, graded levels of the same along with uniform levels of the other inputs were applied to the preceding mulberry crops under experimentation.

MATERIALS AND METHODS

The field experiment was conducted at CSR&TI, Berhampore, West Bengal, India during 2003-2005 on sandy clay loam soil under irrigated condition. It was previously treated with varying levels of phosphorus and uniform levels of nitrogen, potassium and FYM for three years (2000-2003) as per the recommended doses for irrigated condition. The experiment under irrigated Gangetic alluvial soil comprised of five levels of P_2O_5 as treatments (0, 45, 90, 135 and 180 $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$) along with 336 $kg\ N\ ha^{-1}\ year^{-1}$, 112 $kg\ K_2O\ ha^{-1}\ year^{-1}$ and 20 t FYM $ha^{-1}\ year^{-1}$ for each of the treatments. The treatments as mentioned earlier were denoted as follows:

- T1: 0 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ year^{-1}$
- T2: 45 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ year^{-1}$
- T3: 90 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ year^{-1}$
- T4: 135 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ year^{-1}$
- T5: 180 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ year^{-1}$

The experiment was laid out in randomized block design with four replications (variety: S1) and the plantation was maintained following the recommended package of practices. The treatments were applied in five equal splits per year in the preceding mulberry crops for three years. Leaf and shoot yields were recorded crop wise for the succeeding mulberry crops for two years without the application of any treatment to find out the residual effect of the respective treatments. Annually five crops were harvested. Annual yields were computed by pooling two years' data.

RESULTS AND DISCUSSION

Initial and final soil characteristics:

The initial soil physicochemical characteristics of the experimental plots and the concerned references for the analytical methods adopted are presented in Table I. After the completion of the experimentation (2 years), the final soil physicochemical characteristics of the experimental plots were recorded and are presented in Table II.

Productivity:

The mulberry leaf and shoot yields (pool of 3 years) for the five levels of P_2O_5 (0, 45, 90, 135 and 180 $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$) along with uniform doses of N (336 $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$), K_2O (112 $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$) and FYM (20 t $ha^{-1}\ year^{-1}$) were 26.44, 27.88, 28.48, 29.17, 30.17 and 21.63, 22.82, 23.30, 23.87, 24.68 t $ha^{-1}\ year^{-1}$, respectively and the mulberry leaf and shoot yields for the succeeding crops for two years without the application of any treatment were 8.65, 9.08, 9.58, 9.89, 10.29 (Table III) and 3.83, 4.10, 4.30, 4.45, 4.67 t $ha^{-1}\ year^{-1}$ (Table IV), respectively, the maximum being recorded with T5, i.e., P_2O_5 @ 180 $kg\ ha^{-1}\ year^{-1}$ among the residual effect of various doses of phosphorus applied to the preceding mulberry crops. Similar report (Van Der *et al.*, 2006) on the residual effect of fertilizer phosphorus is available pertaining to the response of grain yield of maize to the same under the soils of south-west Kenya registering wide variation in terms of dominance of minerals.

Table I. Initial physicochemical characteristics of experimental soils.*Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques initiales des sols où les expériences ont été réalisées.*

Characteristics	Treatments / Traitements					Reference of the analytical method followed
	T1	T2	T3	T4	T5	
<i>Caractéristiques</i>						<i>Référence de la méthode analytique suivie</i>
Texture	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Black, 1965
pH (1:2.5)	7.69	7.67	7.75	7.73	7.68	Jackson, 1973
EC (dS m ⁻¹)	0.254	0.274	0.253	0.191	0.282	Jackson, 1973
Alkaline KMnO ₄ -N (kg ha ⁻¹)	355.57	343.11	336.50	373.43	361.72	Subbiah and Asija, 1956
Olsen-P (kg ha ⁻¹)	33.57	33.88	34.64	33.00	33.17	Jackson, 1973
NH ₄ OAC-K (kg ha ⁻¹)	300.00	310.00	330.00	395.00	395.00	Jackson, 1973

Table II. Final physicochemical characteristics of experimental soils.*Tableau II. Caractéristiques physico-chimiques finales des sols où les expériences ont été réalisées.*

Characteristics	Treatments / Traitements					Reference of the analytical method followed
	T1	T2	T3	T4	T5	
<i>Caractéristiques</i>						<i>Référence de la méthode analytique suivie</i>
Texture	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Sandy clay loam <i>Terreau d'argile sableuse</i>	Black, 1965
pH (1:2.5)	7.88	7.81	7.91	7.82	7.81	Jackson, 1973
EC (dS m ⁻¹)	0.258	0.279	0.263	0.202	0.289	Jackson, 1973
Alkaline KMnO ₄ -N (kg ha ⁻¹)	287.34	268.00	249.35	257.97	243.12	Subbiah and Asija, 1956
Olsen-P (kg ha ⁻¹)	26.36	25.11	23.20	20.00	16.00	Jackson, 1973
NH ₄ OAC-K (kg ha ⁻¹)	262.00	253.00	261.00	315.00	305.00	Jackson, 1973

Table III. Residual effect of FYM, nitrogen, potassium and graded doses of phosphorus on the leaf yield of succeeding mulberry crops (pool of 2 years).*Tableau III. Effet résiduel du fumier de ferme, de l'azote, du potassium et des doses progressives de phosphore sur le rendement foliaire des récoltes de mûrier consécutives (regroupement de deux années).*

Treatment	1 st Crop (kg ha ⁻¹)	2 nd Crop (kg ha ⁻¹)	3 rd Crop (kg ha ⁻¹)	4 th Crop (kg ha ⁻¹)	5 th Crop (kg ha ⁻¹)	Total (kg ha ⁻¹ year ⁻¹)
Traitement	1 ^{ère} récolte (kg ha ⁻¹)	2 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	3 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	4 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	5 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	Total (kg ha ⁻¹ année ⁻¹)
T1	1153.47	1782.77	2119.14	2102.32	1496.85	8654.55
T2	1248.08	1917.32	2162.59	2112.41	1639.81	9080.21
T3	1267.00	1967.77	2186.12	2334.98	1824.82	9580.69
T4	1325.16	2135.96	2257.20	2351.24	1824.82	9894.38
T5	1348.99	2220.06	2270.51	2371.42	2082.00	10292.98
CD at 5%	71.21	97.38	NS	105.59	85.06	132.66

Table IV. Residual effect of FYM, nitrogen, potassium and graded doses of phosphorus on the shoot yield of succeeding mulberry crops (pool of 2 years).*Tableau IV. Effet résiduel du fumier de ferme, de l'azote, du potassium et des doses progressives de phosphore sur le rendement en pousses des récoltes de mûrier consécutives (regroupement de 2 années).*

Treatment	1st crop (kg ha ⁻¹)	2 nd Crop (kg ha ⁻¹)	3 rd Crop (kg ha ⁻¹)	4 th Crop (kg ha ⁻¹)	5 th Crop (kg ha ⁻¹)	Total (kg ha ⁻¹ year ⁻¹)
Traitement	1 ^{ère} récolte (kg ha ⁻¹)	2 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	3 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	4 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	5 ^{ème} récolte (kg ha ⁻¹)	Total (kg ha ⁻¹ année ⁻¹)
T1	427.47	807.29	854.24	1126.84	613.88	3829.72
T2	454.10	824.11	898.39	1201.13	723.20	4100.93
T3	457.60	891.39	908.20	1231.26	815.70	4304.15
T4	467.41	908.02	958.66	1278.21	840.93	4453.23
T5	482.13	925.02	992.30	1372.11	903.30	4674.86
CD at 5%	NS	53.42	82.55	65.95	57.55	161.75

Nutrient balance:

Soil analysis after two years of succeeding mulberry cultivation without any fertilization revealed that available nitrogen status of soil is lower than the initial in all the treatments and the loss ranged from 68.23 to 118.60 kg ha⁻¹ year⁻¹, the maximum being with T₅ (Table V). Maximum loss in soil available N in T₅ is due to the maximum yield of mulberry leaf and shoot.

Table V. Nutrient balance (kg ha⁻¹) in soil after 2 years as effected by succeeding mulberry crops without fertilization.

Tableau V. Equilibre en nutriments (kg ha⁻¹) dans le sol au bout de 2 ans de récoltes de mûrier sans apport d'engrais.

Treatment	Available N			Available P ₂ O ₅			Available K ₂ O		
	Initial	Final	Loss	Initial	Final	Loss	Initial	Final	Loss
Traitement	N disponible			P ₂ O ₅ disponible			K ₂ O disponible		
	Initial	Final	Perte	Initial	Final	Perte	Initial	Final	Perte
T1	355.57	287.34	68.23	33.57	26.36	7.21	300.00	262.00	38.00
T2	343.11	268.00	75.11	33.88	25.11	8.77	310.00	253.00	57.00
T3	336.50	249.35	87.15	34.64	23.20	11.44	330.00	261.00	69.00
T4	373.43	257.97	115.46	33.00	20.00	13.00	395.00	315.00	80.00
T5	361.72	243.12	118.60	33.17	16.00	17.17	395.00	305.00	90.00

The available P₂O₅ and K₂O status of soil after 2 years of succeeding mulberry cultivation without any fertilizer application are also lower than the initial values in all the treatments that resulted in a respective negative balance. The loss in available P₂O₅ ranged from 7.21 to 17.17 kg ha⁻¹ whereas the loss in available K₂O ranged from 38.0 to 90.0 kg ha⁻¹ among the treatments, the maximum being with T₅ (Table V), which may be attributed to the maximum biomass production of mulberry. It would be pertinent to mention that Gilley and Eghball (2002) investigated the accumulation/ loss of nutrients in soil/ transported runoff due to residual effects of compost and fertilizer application through their experimentation on corn in a silty clay loam soil of Sharpsburg.

From the above findings, it is concluded that T₅ recorded maximum productivity and at the same time maximum depletion of available N, P₂O₅ and K₂O in soil after 2 years of succeeding mulberry cultivation due to the residual effect of various doses of phosphorus applied to the preceding mulberry crops without any fertilization during the 2 years of the experimentation.

REFERENCES

BOKHTIAR S. M., PAUL G. C., ALAM K. M. (2008) Effects of organic and inorganic fertilizer on growth, yield and juice quality and residual effects on ratoon crops of sugarcane. *Journal of Plant Nutrition*, 31, 1832-1843.

- BOSE P. C., KAR, R., MAJUMDER, S. K., BANERJEE, N. D., DUTTA, R.N., GHOSH, J. K., GHOSH, P. L., SARKAR, A. (2006) Fertilizer recommendations for targeted yield of mulberry under irrigated condition of West Bengal. In: *Proceedings of the Workshop on Appropriate Technologies for Mulberry Sericulture in Eastern and North Eastern India* held at CSR and TI, Berhampore, W.B. on 17-18, January, pp. 30-35.
- BLACK C. A. (1965) *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- GILLEY J. E., EGHBALL B. (2002) Residual effects of compost and fertilizer applications on nutrients in runoff. *Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 45, 1905-1910.
- HEGDE D. M. (1998) Long term sustainability of production in rice (*Oryza sativa*)-wheat (*Triticum aestivum*) system in subhumid ecosystem through integrated nutrient supply. *Indian Journal of Agronomy*, 43, 189-198.
- HUNTER A. S., HOFFMAN E. N., YUNGEN J. A. (1961) Residual effects of phosphorus fertilizer on an eastern Oregon soil. *Soil Science Society of American Journal*, 25, 218-221.
- JACKSON M. L. (1973) *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi.
- SIELING K., BRASE T., SVIB V. (2006) Residual effects of different N fertilizer treatments on growth, N uptake and yield of oilseed rape, wheat and barley. *European Journal of Agronomy*, 25, 40-48.
- SINGH G. B., YADAV D. V. (1992) INSS in sugarcane and sugarcane based cropping system. *Fertilizer News*, 37, 15-22.
- SUBBIAH B. V., ASIJA G. L. (1956) A rapid procedure for the estimation of available nitrogen in soil. *Current Science*, 25, 259-261.
- VAN DER E. D., JANSSEN B. H., OENEMA O. (2006) Initial and residual effects of fertilizer phosphorus on soil phosphorus and maize yields on phosphorus fixing soils: A case study in south-west Kenya. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116, 104-120.

ETUDES SUR L'EFFET RESIDUEL DES APPORTS DE NUTRIMENTS CHEZ LE MURIER, EN PARTICULIER SUR L'APPLICATION PROGRESSIVE DE PHOSPHORE

R. KAR, P. C. BOSE & A. K. BAJPAI

Soil Science and Chemistry Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore – 742 101, West Bengal, Inde.

L'expérience réalisée dans des conditions d'irrigation au Central Sericultural Research and Training Institute, à Berhampore - 742 101, dans le Bengale ouest, en Inde révèle que des doses progressives de P_2O_5 (0, 45, 90, 135 et 180 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$) avec 336 $kg\ N\ ha^{-1}\ an^{-1}$, 112 $kg\ K_2O\ ha^{-1}\ an^{-1}$ et 20 t de fumier de ferme $ha^{-1}\ an^{-1}$ appliqués au mûrier pendant les trois années précédentes (2000-2003) ont un effet résiduel significatif sur le rendement en feuilles et en pousses des récoltes suivantes pendant deux ans (2003-2005). On observe l'effet résiduel maximum avec l'application de 180 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$, qui donne des différences marquées de rendement en feuilles et en pousses pendant les récoltes de mûrier suivantes. On enregistre des rendements en feuilles et en pousses plus élevés avec chaque augmentation de P_2O_5 jusqu'à 180 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$. L'analyse du sol au bout de deux ans de culture du mûrier sans engrais montre un équilibre négatif de 68,23 à 118,60, de 7,21 à 17,17 et de 38 à 90 $kg\ ha^{-1}$ respectivement en N, en P_2O_5 et en K_2O disponibles. L'effet résiduel des nutriments sur le mûrier n'a pas été étudié auparavant.

INTRODUCTION

Le système existant de gestion des engrais dans la culture du mûrier se base sur le besoin en nutriments du mûrier, en ignorant l'effet rémanent de l'application d'engrais des années précédentes. Il existe des indications selon lesquelles l'économie d'engrais est possible, si on gère correctement les engrais chez le mûrier. L'effet résiduel des engrais biologiques pourrait être plus prononcé. Les sources de nutriments biologiques et non biologiques appliqués aux cultures précédentes bénéficient dans une large mesure aux récoltes suivantes (Hegde, 1998) et la productivité du système devient durable grâce à l'utilisation intégrée des sources de nutriments biologiques et non biologiques (Singh et Yadav, 1992). Il serait pertinent de mentionner que Sieling et coll., (2006) ont quantifié les effets résiduels de la boue et de l'engrais minéral N dans une rotation raisin d'hiver pour huile de pépin - blé d'hiver – orge d'hiver sur un *luvisol* à Hohenschuelen en Allemagne à long terme et obtenu des résultats encourageants en termes de croissance, de rendement, d'absorption des nutriments, ainsi que d'équilibre en nutriments dans le sol.

Par ailleurs, la labilité moins importante des ions $H_2PO_4^-$ que des ions NO_3^- et K^+ dans le sol montre l'importance particulière de l'engrais phosphaté compte tenu de son effet de rémanence. Le facteur d'efficacité plus important du phosphore dans le sol par rapport à l'azote et au potassium confirme encore le premier postulat (Bose et coll., 2006). Dans ce cadre, Hunter et coll., (1961) ont évalué la part du P résiduel disponible dans un sol de limon Owyhee, avec une culture en rotation d'orge – alfala – maïs – betterave à sucre sur six ans. Par ailleurs, un rapport sur les effets des engrais biologiques et chimiques sur les récoltes suivantes de canne à sucre (Bokhtiar et coll., 2008) confirme les effets rémanents de l'application de N, P, K, S et Z sur la croissance, le rendement ainsi que sur la qualité du jus de la culture en question, avec des augmentations concomitantes des nutriments dans le sol.

Dans ce cadre et en l'absence d'étude sur l'effet résiduel des engrais et du fumier chez le mûrier, cette étude sur l'effet résiduel des sources de nutriments biologiques et chimiques chez le mûrier par rapport à la performance des récoltes suivantes a donc été entreprise. Compte tenu de l'efficacité plus importante du phosphore dans le sol, comme cela a été expliqué plus haut, on a appliqué dans l'expérience des niveaux progressifs de phosphore et des niveaux uniformes des autres intrants aux cultures de mûrier précédentes.

MATERIELS ET METHODES

On procède à l'expérience de terrain au CSR&TI de Berhampore dans le Bengale ouest en Inde en 2003-2005 sur un sol de terreau d'argile sableuse dans des conditions d'irrigation. Auparavant, on le traite avec des niveaux variables de phosphore et uniformes d'azote, de potassium et de fumier de ferme pendant trois ans (2000 – 2003), d'après les doses recommandées pour les conditions d'irrigation. L'expérience dans un sol alluvial du Gange irrigué comprend cinq niveaux de P_2O_5 dans les traitements (0, 45, 90, 135 et 180 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$) avec 336 $kg\ N\ ha^{-1}\ an^{-1}$, 112 $kg\ K_2O\ ha^{-1}\ an^{-1}$ et 20 t de fumier de ferme $ha^{-1}\ an^{-1}$ pour chacun des traitements. Comme on l'a mentionné précédemment, les traitements sont les suivants

- T1 : 0 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$
- T2 : 45 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$
- T3 : 90 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$
- T4 : 135 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$
- T5 : 180 $kg\ P_2O_5\ ha^{-1}\ an^{-1}$

L'expérience est organisée selon une conception aléatoire en blocs avec quatre répétitions (variété : S1) et on entretient la plantation en suivant l'ensemble de pratiques recommandées. On applique les traitements en cinq doses égales séparées par an aux cultures de mûrier précédentes, pendant trois ans. On enregistre les rendements en feuilles et en pousses pour chaque récolte pendant deux ans, sans application d'aucun traitement pour observer l'effet résiduel des traitements respectifs. On obtient cinq récoltes par an. On calcule les rendements annuels en regroupant deux années de données.

RESULTATS ET DISCUSSION

Caractéristiques initiales et finales du sol :

Les caractéristiques physicochimiques initiales du sol des parcelles expérimentales et les références appropriées concernant les méthodes analytiques adoptées sont présentées dans le Tableau I. Après la fin de l'expérience (2 ans), on enregistre les caractéristiques physicochimiques des parcelles expérimentales et elles sont présentées dans le Tableau II.

Productivité :

Les rendements en feuilles et en pousses de mûrier (regroupement de trois années) pour les cinq niveaux de P_2O_5 (0, 45, 90, 135 et 180 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$) avec les doses uniformes de N (336 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$), de K_2O (112 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$) et de fumier de ferme (20t $ha^{-1}\ an^{-1}$) sont de respectivement 26,44 ; 27,88 ; 28,48 ; 29,17 ; 30,17 et de 21,63 ; 22,82 ; 23,30 ; 23,87 ; 24,68 t $ha^{-1}\ an^{-1}$ et les rendements en feuilles et en pousses pour les récoltes suivantes pendant deux ans sans application d'aucun traitement sont de respectivement 8,65 ; 9,08 ; 9,58 ; 9,89 ; 10,29 (Tableau III) et de 3,83 ; 4,10 ; 4,30 ; 4,45 ; 4,67 t $ha^{-1}\ an^{-1}$ (Tableau IV), le maximum étant enregistré avec T5, c'est-à-dire P_2O_5 à raison de 180 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$, par rapport à l'effet résiduel des différentes doses de phosphore

appliquées aux précédentes cultures de mûrier. Il existe un rapport similaire (Van Der et coll., 2006) sur l'effet résiduel de l'engrais de phosphore concernant la réponse du grain de maïs à celui-ci, dans les sols du sud-ouest du Kenya et qui montre une grande variation en termes de la dominance des minerais.

Equilibre en nutriments :

L'analyse du sol après deux années consécutives de culture du mûrier sans aucun engrais révèle que l'azote disponible dans le sol est plus faible qu'au début avec tous les traitements et la perte est comprise entre 68,23 et 118,60 kg ha⁻¹ an⁻¹, la perte la plus importante se produisant avec T5 (Tableau V). La perte maximum en N disponible dans le sol avec T5 est due au rendement maximum en feuilles et en pousses de mûrier.

Le niveau de P₂O₅ et de K₂O dans le sol au bout de deux ans de culture consécutive de mûrier sans aucune application d'engrais est aussi plus faible que les valeurs initiales avec tous les traitements, ce qui entraîne un équilibre négatif respectif. La perte en P₂O₅ disponible est comprise entre 7,21 et 17,17 kg ha⁻¹, tandis que la perte en K₂O disponible est comprise entre 38,0 et 90,0 kg ha⁻¹ entre les traitements, la plus importante se produisant avec T5 (Tableau V), ce que l'on pourrait attribuer à la production maximum de biomasse de mûrier. Il serait pertinent de mentionner que, grâce à leur expérimentation sur le maïs dans un sol de terreau d'argile limoneuse de Sharpsurg, Gilley et Eghball (2002) ont étudié l'accumulation / la perte des nutriments dans le sol transportés, évaporés, sous l'influence des effets résiduels de l'application de compost et d'engrais.

D'après les résultats ci-dessus, on peut conclure que T5 enregistre la productivité maximum et en même temps la diminution maximum de N, P₂O₅ et de K₂O disponibles dans le sol au bout de deux ans de culture consécutive de mûrier, en raison de l'effet résiduel des différentes doses de phosphore appliquées aux précédentes cultures de mûrier, sans aucun apport d'engrais pendant les deux années d'expérimentation.

REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN RELATION TO MALE AND FEMALE PUPAL WEIGHTS AND THEIR COMBINATIONS IN TROPICAL TASAR SILKWORM, *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY

R. MANOHAR REDDY*, N. SURYANARAYANA, SURESH RAI AND N. B. VIJAYA PRAKASH

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

*Best reproductive performance recorded for combinations of tasar silk moths emerged from middle pupal weight group [MPW] of males [6.50 to 7.50 & 6.75 to 7.70 g] and females [9.00 to 10.00 & 9.50 to 11.30 g] of Daba and Jata ecoraces respectively. The next better performance from lower pupal weight [LPW] group and least performance from higher pupal weight [HPW] group have been recorded for male moths and vice versa for females, when coupled with middle pupal weight group of females and males respectively. The study revealed that the pupal weights and thereby moth sizes contributes particularly for coupling, fecundity and fertility by males and fecundity, emergence and coupling by females. The prominent correlation of males and females of varied pupal weights and their combinations with emergence, coupling, fecundity and fertility in both Daba and Jata ecoraces denotes the importance of seed cocoon selection from middle to lower in males and from middle to higher in females for optimizing commercial tasar silkworm seed production both quantitatively and qualitatively. However, no dissimilarity in trends of reproductive performance was recorded among varied ecoraces, Daba and Jata of *Antheraea mylitta*.*

Keywords: *Antheraea mylitta*, Reproduction, Pupal weight, Fecundity, Fertility, Coupling

INTRODUCTION

The wild sericigenous insect *Antheraea mylitta* Drury; (Lepidoptera: Saturniidae) commonly known as Indian tasar silkworm is polyphagous and feeds on primary food plants *Shorea robusta* (Sal), *Terminalia tomentosa* (Asan) and *Terminalia arjuna* (Arjun). A total of forty four ecoraces have been reported from different parts of India but only Daba and Sukinda ecoraces were commercially exploited and a little of Jata race from Simlipal biosphere of Orissa state (Hansda *et al.*, 2008). In general, the sizes of cocoon, pupa and moths of insects have direct correlation with their reproductive performance. Analytical methods were tried to discriminate the sex and to sort out seed cocoons of *Antheraea mylitta* (Dubey *et al.*, 1995). The male derived factors influences fecundity, fertility and activity of copulation in insects enhancing egg laying capacity (Danthanarayana and Gu, 1991). The fecundity enhancing materials are useful for increasing fecundity in *Antheraea mylitta* (Chowdhary *et al.*, 1996). The cooler rearing temperatures produce heavy females with higher fecundities (Miller, 2005). Maximum number of fertile eggs with higher hatching was recorded during first mating due to transfer of sufficient spermatid fluid by bivoltine males (Krishnaprasad *et al.*, 2002). The mating and transport of sperm along with fecundity enhancing substances into

* E-mail: dr.manohar1959@rediffmail.com

reproductive tract of females will enhance egg fecundity and fertility (Ravi Kumar *et al.*, 1995) and mating duration has an impact on fecundity and hatching in *Antheraea assama* (Biswas and Ray, 2005). The larger female seed cocoon selection for bigger moths to improve the fecundity has been found positive in *Bombyx mori* L (Jayaswal *et al.*, 1991; Ravindra Singh *et al.*, 1994), in *Antheraea proylei* (Ghosh *et al.*, 1996), in *Samia Cynthia ricini* (Kotical *et al.*, 1989), in *Epilachna niponica* (Ohgushi, 1996), in *Aphidius ervi* (He and Wang, 2006), in *Samia ricini* (Hazarika *et al.*, 2007) and in other lepidopterans (Miller *et al.*, 1982; Badhera, 1992; Miller, 2005). The need for information correlating pupal weights of males / females and their combinations with reproductive performance in *Antheraea mylitta* has prompted us to take up present study.

MATERIALS AND METHODS

The seed cocoons of Daba and Jata races of *Antheraea mylitta* D were cut open and male and female pupae were separated. Based on weight, each sex was divided into three groups as lower pupal weight [LPW], middle pupal weight [MPW] and higher pupal weight [HPW]. In one set of experiment the females of middle pupal weight [MPW] were mated separately with males of three groups i.e. LPW, MPW, HPW and random (no selection) mating group as control to study the correlation between the reproductive performance and male pupal weights / combinations. In another set of experiment the males of middle pupal weight [MPW] were used for mating separately with females of three groups i.e. LPW, MPW, HPW and random mating group as control to study the correlation between the reproductive performances and female pupal weights / combinations. The freshly emerged males and females of different pupal weight groups / races were coupled at 8.00 AM using separate cocoon cages. Combination wise emergence and coupling percentages were recorded, allowed mating for 8 hours i.e. up to 4.00 PM and the decoupled females kept individually in paper boxes for oviposition. Eggs of each female moth were collected after 72 hours, the fecundity was recorded and they were incubated at optimal conditions till hatching. The egg hatching was recorded for three days to calculate hatching percentage. The eggs were allowed to hatch till the last one to know the number of fertilized eggs and to calculate fertility percentage. The experiment conducted during both grainage seasons for two years and data collected with six replications for each set of mated group on different parameters were subjected to statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The ANOVA of low, middle and high pupal weight groups of males versus middle pupal weight group of females in respect of reproductive performance for Daba and Jata ecoraces (Table I) indicates a significant variation (0.1% to 5% levels) among treatments except for emergence in Daba race. The ANOVA of low, middle and high pupal weight groups of females versus middle pupal weight group of males in respect to reproductive performance for Daba and Jata ecoraces (Table II) shows significant variation (0.1% to 5% levels) among treatments. The fecundity and fertility in both races and hatching percentage in Daba were highly significant (0.1% level).

The results on reproductive performances of low, middle and high pupal weight groups of males against middle pupal weight group of females in Daba and Jata races (Table III) indicate a positive improvement in middle pupal weight group of males over random mated group. Highest positive change in hatching of both the races (+23.8 & +25.1%) in addition to emergence (+37.8%) and coupling (+37.7%) of Jata over random group has been recorded. Highest emergence (85.6%), coupling (88.3%) and hatching (86.1%) in Jata and highest fecundity (256) and fertility (96.22%) in Daba were recorded in middle pupal group of males among two races. However, the least performances have been recorded in all parameters except for coupling in Jata race.

Table I. ANOVA of low, middle & high pupal weight group of males and middle pupal weight group of females in Daba and Jata ecoraces.

Tableau I. ANOVA des groupes mâles de poids nymphal, faible, moyen et élevé et du groupe femelle de poids nymphal moyen chez les écoraces Daba et Jata.

Particulars	DF	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (nos)	Hatching (%)	Fertility (%)
<i>Données</i>	<i>Degrés de liberté</i>		<i>Accouplement (%)</i>	<i>Fécondité (nbre)</i>	<i>Éclosion (%)</i>	<i>Fertilité (%)</i>
Daba ecorace		Source : Mean sum of squares				
		Source : Somme moyenne des carrés				
Replicates / Répétitions	5	86.6	141.2	1060.5	59.0	4.2
Treatments / Traitements	3	493.2 NS	2181.0***	2530.3**	529.5***	242.2***
Error / Ecart	15	162.1	164.4	399.9	53.6	12.1
Total	23	188.9	422.4	821.4	116.9	40.4
Jata ecorace		Source : Mean sum of squares				
		Source : Somme moyenne des carrés				
Replicates / Répétitions	5	49.5	93.0	175.9	33.9	25.1
Treatments / Traitements	3	1420.4**	1998.7***	2875.0*	640.8***	259.5***
Error / Ecart	15	218.2	211.7	653.7	37.8	10.5
Total	23	338.3	419.0	839.6	115.6	46.2

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

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

*** : Significant at 0.1% level / *Significatif au seuil de 0,1 %*

NS: Non significant / *Non significatif.*

The results on reproductive performances of low, middle and high pupal weight group of females against middle pupal weight group of males in Daba and Jata races (Table IV) indicate positive improvement in middle pupal group of males over random mated group. Highest positive change in hatching (+24.8%), emergence (+18.6%) and fecundity (+15.2%) in Daba and fecundity (+22.0%), emergence (+18.3%) and hatching (+13.7%) in Jata were recorded over random mated group. Highest emergence (85.5%), fecundity (281), hatching (86.6%) and fertility (95.80%) have been recorded by Daba race, while highest coupling (81.7%) was recorded by Jata in middle pupal group of females. The least performances were recorded in emergence, coupling and fecundity of Jata and hatching and fertility of Daba races. The levels of performance among male pupal weight groups were found descending in the order from middle, random, lower and higher pupal groups, while the same was from middle, random, higher and lower pupal groups among female weight groups.

Table II. ANOVA of low, middle & high pupal weight group of females and middle pupal weight group of males in Daba and Jata ecoraces.

Tableau II. ANOVA du groupe de femelles de poids nymphal, faible, moyen et élevé et du groupe mâle de poids nymphal moyen chez les écoraces Daba et Jata.

Particulars	DF	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (nos)	Hatching (%)	Fertility (%)
<i>Données</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Accouplement (%)</i>	<i>Fécondité (nbre)</i>	<i>Éclosion (%)</i>	<i>Fertilité (%)</i>	
Daba ecorace		Source : Mean sum of squares / Source : Somme moyenne des carrés				
Replicates / Répétitions	5	517.3	229.1	339.9	4.6	2.1
Treatments / Traitements	3	1257.3**	1617.3**	2087.9***	710.7***	305.6***
Error / Ecart	15	185.5	197.3	483.9	35.1	16.0
Total	23	397.4	389.4	311.2	116.6	50.8
Jata ecorace		Source : Mean sum of squares / Source : Somme moyenne des carrés				
Replicates / Répétitions	5	392.8	333.1	328.4	38.8	5.3
Treatments / Traitements	3	631.7*	1452.9*	1370.1***	227.4**	168.4***
Error / Ecart	15	162.9	322.3	381.0	40.8	8.3
Total	23	274.0	472.1	210.7	64.6	28.6

* : Significant at 5% level / *Significatif au seuil de 5 %* ** : Significant at 1% level / *Significatif au seuil de 1 %* *** : Significant at 0.1% level / *Significatif au seuil de 0,1 %*.

The results of Table V & VI indicate the levels of deviation in reproductive performance of low and high against middle pupal weight groups of males when coupled with middle pupal group of females and vice versa. The deviation percentages are negative in both low and high pupal weight groups of males, with higher deviation in high pupal group in both races. The performance variation among low and high pupal weight groups of males was recorded maximum for coupling followed by fecundity and fertility in both Daba and Jata ecoraces. However, the deviation percentages are negative in both low and high pupal weight groups of females, with higher deviation in low pupal group in both races. The performance variation among low and high pupal weight groups of females was recorded maximum for fecundity followed by emergence and coupling percentages in both Daba and Jata ecoraces.

The performance of reproduction in insects varies with extraneous climatic factors in addition to physiological status of parents involved. The correlation between sizes of cocoons, pupae, moths etc., and reproductive performances of economic insects is of vital importance to make their cultures commercially viable. The significant variations among treatments for reproductive parameters in different groups of males versus standard group of females and vice versa in both Daba and Jata ecoraces indicate the importance and impact of parental selection based on pupal weight as well as their combinations towards the improvement of quantity and quality of commercial seed. The parameters studied are fundamentally crucial even for economics of commercial seed production and use of right parents and their combinations can optimize the utilization of raw material and production of end product as quality commercial tasar seed.

Table III. Performance of low, middle & high pupal weight group of males against middle pupal weight group of females in Daba and Jata ecoraces (values represent mean, \pm SE and % change over control i.e. random mated group)

Tableau III. Performance du groupe de mâles à poids nymphal faible, moyen et élevé par opposition au groupe femelle à poids nymphal moyen chez les écoraces Daba et Jata (les valeurs représentent la moyenne, \pm l'écart type et le % de changement par rapport au témoin, le groupe à accouplement aléatoire).

Race	Pupal group	Male pupal weight (g)	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (no.)	Hatching (%)	Fertility (%)
	<i>Groupe nymphal</i>	<i>Poids nymphal du male (g)</i>		<i>Accouplement (%)</i>	<i>Fécondité (nbre)</i>	<i>Éclosion (%)</i>	<i>Fertilité (%)</i>
Daba	Random <i>Aléatoire</i>	No selection <i>Non choisi</i>	72.1 \pm 5.3	77.2 \pm 3.4	244 \pm 12.9	69.4 \pm 1.8	92.93 \pm 0.8
Daba	Lower Weight <i>Poids inférieur</i>	5.70 - 6.45	64.1 \pm 5.3 (- 11.1)	73.9 \pm 3.3 (- 04.3)	243 \pm 7.4 (- 0.40)	68.6 \pm 3.0 (- 01.2)	90.93 \pm 1.2 (- 02.1)
Daba	Middle weight <i>Poids moyen</i>	6.50 - 7.50	78.3 \pm 1.9 (+09.3)	83.9 \pm 3.3 (+ 08.7)	256 \pm 7.8 (+ 04.9)	85.9 \pm 2.6 (+ 23.8)	96.22 \pm 0.5 (+ 03.5)
Daba	Higher eight <i>Poids supérieur</i>	7.75 - 8.45	57.6 \pm 6.0 (- 20.1)	41.1 \pm 8.6 (- 46.8)	208 \pm 9.7 (- 14.7)	64.6 \pm 4.2 (- 06.9)	81.42 \pm 2.1 (- 12.4)
Jata	Random <i>Aléatoire</i>	No selection <i>Non choisi</i>	62.1 \pm 6.1	73.3 \pm 5.2	200 \pm 6.1	68.8 \pm 1.5	92.01 \pm 0.8
Jata	Lower Weight <i>Poids inférieur</i>	5.65 - 6.50	60.4 \pm 5.8 (- 02.7)	66.1 \pm 4.9 (- 09.8)	195 \pm 7.7 (- 02.5)	66.1 \pm 2.0 (- 03.9)	87.37 \pm 1.5 (- 05.0)
Jata	Middle weight <i>Poids moyen</i>	6.75 - 7.70	85.6 \pm 2.7 (+ 37.8)	88.3 \pm 3.7 (+ 37.7)	219 \pm 5.7 (+ 09.5)	86.1 \pm 2.4 (+ 25.1)	95.79 \pm 0.8 (+ 04.1)
Jata	Higher Weight <i>Poids supérieur</i>	7.85 - 8.65	48.9 \pm 6.2 (- 24.5)	44.5 \pm 7.5 (- 39.3)	166 \pm 15.1 (- 17.0)	63.1 \pm 3.5 (- 08.3)	80.51 \pm 2.5 (- 12.5)

Table IV. Performance of low, middle & high pupal weight group of females against middle pupal weight group of males in Daba and Jata ecoraces (values represent mean, \pm SE and % change over control i.e. random mated group).

Tableau IV. Performance des groupes de femelles au poids nymphal faible, moyen et élevé par opposition au groupe mâle de poids nymphal moyen chez les écoraces Daba et Jata (les valeurs représentent la moyenne, \pm l'écart type et le % de changement par rapport au témoin, c'est-à-dire le groupe accouplé de manière aléatoire).

Race	Pupal group	Female pupal weight (g)	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (no.)	Hatching (%)	Fertility (%)
	Groupe nymphal	Poids nymphal femelle (g)		Accouplement (%)	Fécondité (nbre)	Éclosion (%)	Fertilité (%)
Daba	Random <i>Aléatoire</i>	No selection <i>Non choisi</i>	72.1 \pm 5.3	77.2 \pm 3.4	244 \pm 12.9	69.4 \pm 1.8	92.93 \pm 0.8
Daba	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	7.50 - 8.80	51.3 \pm 8.3 (-28.8)	46.7 \pm 6.1 (-39.5)	141 \pm 7.8 (-42.2)	60.7 \pm 1.7 (-12.5)	79.54 \pm 2.1 (-14.4)
Daba	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.00 - 10.00	85.5 \pm 3.0 (+18.6)	81.2 \pm 6.8 (+05.2)	281 \pm 7.5 (+15.2)	86.6 \pm 2.9 (+24.8)	95.80 \pm 1.1 (+03.1)
Daba	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	10.50 - 11.40	62.8 \pm 8.6 (-12.9)	57.2 \pm 6.5 (-25.9)	220 \pm 4.0 (-09.8)	69.2 \pm 1.9 (-0.30)	87.68 \pm 1.5 (-05.6)
Jata	Random <i>Aléatoire</i>	No selection <i>Non choisi</i>	62.1 \pm 7.1	73.3 \pm 5.2	200 \pm 6.1	68.8 \pm 1.5	92.00 \pm 0.7
Jata	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	8.60 - 9.30	48.4 \pm 8.3 (-22.1)	45.3 \pm 9.6 (-38.2)	128 \pm 6.6 (-36.0)	64.4 \pm 3.5 (-06.4)	81.69 \pm (-11.2)
Jata	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.50 - 11.30	73.5 \pm 5.6 (+18.3)	81.7 \pm 5.1 (+11.5)	244 \pm 7.4 (+22.0)	78.2 \pm 2.1 (+13.7)	92.97 \pm 1.3 (+01.1)
Jata	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	11.50 - 12.35	60.3 \pm 6.9 (-02.9)	67.8 \pm 8.4 (-07.5)	202 \pm 10.4 (+01.0)	66.0 \pm 2.8 (-04.1)	86.03 \pm 0.7 (-06.5)

Table V. Performance deviations of low and high pupal weights of males against middle weight group of females in Daba and Jata ecoraces (values represent mean, \pm SE and % change over middle pupal weight group).

Tableau V. Ecart de la performance des mâles de poids nymphal faible et élevé par opposition au groupe femelle de poids moyen chez les écoraces Daba et Jata (les valeurs représentent la moyenne, \pm l'écart type et le % de changement par rapport au groupe de poids nymphal moyen).

Race	Pupal group	Male Pupal weight (g)	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (nos)	Hatching (%)	Fertility (%)
	<i>Groupe nymphal</i>	<i>Poids nymphal mâle (g)</i>		<i>Accouplement (%)</i>	<i>Fécondité (nbre)</i>	<i>Ecllosion (%)</i>	<i>Fertilité (%)</i>
Daba	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.00 - 10.00	78.3 \pm 1.9	83.9 \pm 3.3	256 \pm 7.8	85.9 \pm 2.6	96.22 \pm 0.5
Daba	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	7.50-8.80	64.1 \pm 5.3 (- 18.1)	73.9 \pm 3.3 (- 11.9)	243 \pm 7.4 (- 5.1)	68.6 \pm 3.0 (- 20.1)	90.93 \pm 1.2 (- 0.5.5)
Daba	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	10.50-11.40	57.6 \pm 6.0 (- 26.4)	41.1 \pm 8.6 (- 51.0)	208 \pm 9.7 (- 18.7)	64.6 \pm 4.2 (- 24.8)	81.42 \pm 2.1 (- 15.4)
Jata	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.50-11.30	85.6 \pm 2.7	88.3 \pm 3.7	219 \pm 5.7	86.1 \pm 2.4	95.79 \pm 0.8
Jata	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	8.60- 9.30	60.4 \pm 5.8 (- 29.4)	66.1 \pm 4.9 (- 25.1)	195 \pm 7.7 (- 10.9)	66.1 \pm 2.0 (- 23.2)	87.37 \pm 1.5 (- 0.8.8)
Jata	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	11.50-12.35	48.9 \pm 6.2 (- 42.9)	44.5 \pm 7.5 (- 49.6)	166 \pm 15.1 (- 24.2)	63.1 \pm 3.5 (- 26.7)	80.51 \pm 2.5 (- 15.9)

Table VI. Performance deviations of low and high against middle pupal weight of females against middle weight group of males in Daba and Jata ecoraces (values represent mean, \pm SE and % change over middle pupal weight group).

Tableau VI. Ecart de la performance du groupe de femelles de poids nymphal faible et élevé (par rapport au poids moyen) par opposition au groupe mâle de poids moyen chez les écoraces Daba et Jata (les valeurs représentent la moyenne, \pm écart type et le % de changement par rapport au groupe de poids nymphal moyen).

Race	Pupal group	Female Pupal weight (g)	Emergence (%)	Coupling (%)	Fecundity (nos)	Hatching (%)	Fertility (%)
	Groupe nymphal	Poids nymphal femelle (g)		Accouplement (%)	Fécondité (nbre)	Éclosion (%)	Fertilité (%)
Daba	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.00 - 10.00	85.5 \pm 3.0	81.2 \pm 6.8	281 \pm 7.5	86.6 \pm 2.9	95.80 \pm 1.1
Daba	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	7.50-8.80	51.3 \pm 8.3 (-40.0)	46.7 \pm 6.1 (-42.5)	141 \pm 7.8 (-49.8)	60.7 \pm 1.7 (-29.9)	79.54 \pm 2.1 (-17.0)
Daba	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	10.50-11.40	62.8 \pm 8.6 (-14.0)	57.2 \pm 6.5 (-29.5)	220 \pm 4.0 (-21.7)	69.2 \pm 1.9 (-20.1)	87.68 \pm 1.5 (-08.5)
Jata	Middle weight <i>Poids moyen</i>	9.50-11.30	73.5 \pm 5.6	81.7 \pm 5.1	244 \pm 7.4	78.2 \pm 2.1	92.97 \pm 1.3
Jata	Lower weight <i>Poids inférieur</i>	8.60- 9.30	48.4 \pm 8.3 (-34.1)	45.3 \pm 9.6 (-44.5)	128 \pm 6.6 (-47.5)	64.4 \pm 3.5 (-17.6)	81.69 \pm 1.5 (-12.2)
Jata	Higher weight <i>Poids supérieur</i>	11.50-12.35	60.3 \pm 6.9) (-17.9)	67.8 \pm 8.4 (-17.0)	202 \pm 10.4 (-17.2)	66.0 \pm 2.8 (-15.6)	86.03 \pm 0.7 (-0.7.5)

The best performances of males from middle pupal weight group over random group in both ecoraces indicate the role of male in reproduction. In spite of providing better female component, the optimal reproductive success depends on availability of appropriate male counterpart. The hatching, most associated character of egg fertility depends on potency of male moth in terms of transferring sperms along with secretions of accessory glands which might be the reason for better performance of middle weight group of males when mated with same weight group of females. The results are in conformity with the observations made by Ravi Kumar *et al.*, 1995; Krishnaprasad *et al.*, 2002; Biswas and Ray, 2005. Further, the better emergence and coupling performances of middle group males show the impact of cocoon selection on reproduction, which certainly plays a vital role for quantity and quality of commercial seed. The best performances of females from middle pupal weight group over random group in both races indicate the role of female in reproduction. In spite of providing better male component, the optimal reproductive success depends on availability of appropriate female counterpart. The healthiness and size of female moth contributes to optimal emergence followed by better coupling and laying of more fertile eggs (Jayaswal *et al.*, 1991; Ravindra Singh *et al.*, 1994; Ghosh *et al.*, 1996; Yadav *et al.*, 2001; He and Wang, 2006; Hazarika *et al.*, 2007). This might be the reason for better performance of middle weight group of females when mated with same weight group of males. This also indicates the role of combinations among male and female parents for optimal reproductive success. Further, the better emergence and hatching performances of both races in middle weight group of females show their role in superior reproduction and thereby for higher egg recovery. The optimal achievement in reproduction is possible only with proper mating combination of both sexes, which make male transfer required sperms along with essential reproductive gland secretions to make female produce substantial fecundity with optimal fertility for industry's commercial sustenance in tasar silkworm seed production.

The negative deviation in reproductive performances of both sexes in high and low pupal weight groups over middle group further supports the correlation between pupal weights and reproduction in both Daba and Jata ecoraces of *Antheraea mylitta*. But, the dissimilar trend among males and females indicate potential suitability of middle to low pupal weight groups in males and middle to high in females. The results are in conformity with earlier observations and reports of Singh and Prasad, 1987; Kotical *et al.*, 1989; Jayaswal *et al.*, 1991; Ravindra Singh *et al.*, 1994; Yadav *et al.*, 2001; Calvo and Molina, 2005 in *Bombyx mori*, *Antheraea proylei*, *Antheraea paphia*, *Samia Cynthia ricini*, *Philosamia ricini*, *Spodoptera mauritia*, *Streblote panda* and in other lepidopterans.

The study infers that the male pupal weights and their combinations correlates with coupling, fecundity and fertility and female pupal weights and their combinations correlates with fecundity, emergence and coupling in both Daba and Jata ecoraces. This denotes that the selection of seed cocoon from middle to lower for males and middle to higher for females can optimize commercial tasar seed productivity and quality in general and for easy race wise and sex wise segregation of seed cocoons for hybrid seed production in particular.

REFERENCES

- BADHERA S. (1992) Relationship between pupal dimensions and fecundity in tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera: Saturniidae). UP. J. Zool., 12(1): 37-39.
- BISWAS I., RAY N. (2005) Studies on seed (Egg) production with reference to mating behavior of Muga silkworm, *Antheraea assama* Westwood. Sericologia., 45(3): 329-334.
- CALVO D., MOLINA J.M. (2005) Fecundity-body size relationship and other reproductive aspects of *Streblote panda* (Lepidoptera: Lasiocampidae). Annal. Entomol. Soci. Amer., 98: 191-196.
- CHOWDHARY S.K., CHOWDHARY A.B., KHAJURIA R.K., JAIN S.M. (1996) Studies on enhancing egg production in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D by glycosides of steroids and polyphenolics. Sericologia., 36(3): 497-505.

- DANTHANARAYANA W., GU H. (1991) Multiple mating and its effect on the reproductive success of female *E. postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Ecol. Entomol.*, 16: 169-175.
- DUBEY O.P., OJHA N.G., SINGH M.K., THANGAVELU K. (1995) Studies on the characteristics of seed cocoon selection in the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera: Saturniidae). *Sericologia.*, 35(2): 247-251.
- GHOSH M.K., BABU C.M., PONNUVEL K.M., SRIVASTAVA R.C. (1996) Correlation between female moth weight and fecundity in the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* J. *Sericologia.*, 36(3): 561-564.
- HANSDA G., MANOHAR REDDY R., SINHA M.K., OJHA N.G., VIJAYA PRAKASH N.B. (2008) *Ex-situ* Stabilization and Utility Prospects of 'Jata' Ecorace of Tropical Tasar Silkworm *Antheraea mylitta* Drury. *Int. J. Indust. Entomol.*, 17(2): 169-172.
- HAZARIKA U., SARKAR B.N., BARAH A., CHAKRAVORTHY R. (2007) Association of fecundity with larval and pupal weight in different ecoraces of eri silkworm *Samia ricini* Donovan. *J. Adv. Zool.*, 28(2): 67-71.
- HE X.Z., WANG Q. (2006) Asymmetric size effect of sexes on reproductive fitness in an aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Biol. Control.*, 36: 293-298.
- JAYASWAL K.P., SINGH T., SUBBA RAO G. (1991) Effect of female pupal weight on fecundity in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Ind. J. Seric.*, 30: 141-143.
- KOTICAL Y.K., REDDY D.N.R., PRABHU A.S., BHAT G.G., PUSHPALATHA S. (1989) Relationship between pupal size and egg production in eri silkworm *Samia Cynthia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae). *Ind. J. Seric.*, 28(1): 80-82.
- KRISHNAPRASAD N.K., SANNAPPA B., VARALAKSHMI R. (2002) Effect of multiple mating on grainage performance of newly evolved bivoltine breeds of *Bombyx mori*. L. *Bull. Ind. Acad. Seric.*, 6(2): 50-55.
- MILLER W.E. (2005) Extrinsic effects on fecundity-maternal weight relations in capital-breeding Lepidoptera. *J. Lepidop. Soci.*, 59(3): 143-160.
- MILLER A.T., COOPER W.J., HIGHFILL J.W. (1982) Relationship between pupal size and egg production in reared female *Antheraea polyphemus*. *Annal. Entomol. Soci. Amer.*, 75: 107-108.
- OHGUSHI T. (1996) Consequences of adult size for survival and reproductive performance in a herbivorous ladybird beetle, *Epilachna niponica* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecol. Entomol.*, 21: 47-55.
- RAVIKUMAR G., RAJESHWARY H., OJHA N.G., THANGAVELU K. (1995) Effect of multiple mating on fecundity and fertility in the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D (Lepidoptera : Saturniidae). *Entomon.*, 20(1): 15-17.
- RAVINDRA SINGH., CHATURVEDI H K., DATTA R.K. (1994) Fecundity of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L in relation to female cocoon weight and repeated matings, *Ind. J. Seric.*, 33(1): 70-71.
- SINGH Y.R., PRASAD B. (1987) Correlation among body weight, pupal weight and fecundity of Eri silkworm, *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae). *Sericologia.*, 27: 49-60.
- YADAV G.S., SINGH B.M.K., SINHA B.R.R.PD., THANGAVELU K. (2001) Studies on association between moth weight and potential fecundity of ecorace Bhandara of tasar silk moth (*Antheraea paphia* Linn.). *Bull. Ind. Acad. Seric.*, 5: 59-67.

PERFORMANCE DE REPRODUCTION EN RAPPORT AVEC LES POIDS NYMPHAUX MALE ET FEMELLE ET LEURS COMBINAISONS CHEZ LE VER A SOIE TASAR, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY

R. MANOHAR REDDY, N. SURYANARAYANA, SURESH RAI & N. B. VIJAYA
PRAKASH

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

*La meilleure performance de reproduction enregistrée pour les combinaisons de papillons tasar vient du groupe mâle [MPW] [de 6,50 à 7,50 et de 6,75 à 7,70 g] et femelle [de 9 à 10 et de 9,50 à 11,30g] de poids nymphal moyen respectivement chez les écoraces Daba et Jatta. Ensuite, on enregistre la meilleure performance du groupe de poids nymphal inférieur [LPW] et la moins bonne performance du groupe de poids nymphal supérieur [HPW] pour les papillons mâles et inversement pour les femelles, quand on les accouple respectivement avec le groupe de poids nymphal moyen femelle et mâle. L'étude révèle que les poids des chrysalides et donc les tailles des papillons contribuent chez les mâles, en particulier, à l'accouplement, à la fécondité et à la fertilité et chez les femelles à la fécondité, à l'émergence et à l'accouplement. La corrélation importante entre les poids des chrysalides mâles et femelles (et leurs combinaisons) et l'émergence, l'accouplement, la fécondité et la fertilité à la fois chez les écoraces Daba et Jata montre l'importance de la sélection de cocons de grainage mâles de moyens à inférieurs et femelles de moyens à supérieurs pour optimiser la production de grainage commercial du ver à soie tasar, à la fois quantitativement et qualitativement. Cependant, on n'enregistre aucune différence dans les tendances de la performance de reproduction entre les différentes écoraces d'*Antheraea mylitta* Daba et Jata.*

INTRODUCTION

L'insecte séricigène sauvage *Antheraea mylitta* Drury ; (Lépidoptère : Saturniidé) connu couramment en tant que ver à soie tasar indien est polyphage et se nourrit sur les plantes hôtes primaires *Shorea robusta* (Sal), *Terminalia tomentosa* (Asan) et *Terminalia arjuna* (Arjun). On a signalé un ensemble de quarante quatre écoraces dans les différentes parties de l'Inde, mais seules les écoraces Daba et Sukinda sont exploitées sur le plan commercial ainsi que la race Jata à petite échelle dans la biosphère de Simlipal dans l'état de l'Orissa (Hansda et coll., 2008). En général, les tailles des cocons, des chrysalides et des papillons des insectes ont une corrélation directe avec leur performance de reproduction. On a essayé des méthodes analytiques pour distinguer les sexes et trier les cocons de grainage d'*Antheraea mylitta* (Dubey et coll., 1995). Les facteurs provenant du mâle influencent la fécondité, la fertilité et l'activité de copulation des insectes, en améliorant la capacité de ponte des œufs (Dhanthanarayana et Gu, 1991). Les matériels qui augmentent la fécondité sont utiles pour améliorer la fécondité chez *Antheraea mylitta* (Chowdhary et coll., 1996). Les températures d'élevage plus froides produisent des femelles plus lourdes avec des fécondités plus élevées (Miller, 2005). On enregistre le nombre maximum d'œufs fertiles avec une éclosion supérieure pendant le premier accouplement en raison du transfert suffisant de liquide séminal par les mâles bivoltins (Krishnaprasad et coll., 2002). L'accouplement et le transport de sperme avec des substances améliorant la fécondité dans le système reproductif des femelles augmente la fécondité et

la fertilité des œufs (Ravi Kumar et coll., 1995) et la durée d'accouplement a un impact sur la fécondité et l'éclosion d'*Antheraea assama* (Biswas et Ray, 2005). On a constaté que la sélection de cocons de grainage femelles plus gros, pour avoir des papillons plus gros afin d'améliorer la fécondité, s'avère positive chez *Bombyx mori* L. (Jayaswal et coll., 1991 ; Ravindra Singh et coll., 1994), chez *Antheraea proylei* (Ghosh et coll., 1996), chez *Samia cynthia ricini* (Kotical et coll., 1989), chez *Epilachna niponica* (Ohgushi, 1996), chez *Aphidus ervi* (He et Wang, 2006), chez *Samia ricini* (Hazarika et coll., 2007) et chez d'autres lépidoptères (Miller et coll., 1982 ; Badhera, 1992 ; Miller, 2005). Le besoin d'informations corrélant les poids des chrysalides mâles et femelles et leurs combinaisons avec la performance de reproduction d'*Antheraea mylitta* nous a poussé à entreprendre cette étude.

MATERIELS ET METHODES

On ouvre les cocons de grainage des races Daba et Jata d'*Antheraea mylitta* et on sépare les chrysalides mâles des chrysalides femelles. D'après le poids, on divise chaque sexe en trois groupes, c'est à dire poids nymphal inférieur (LPW), poids nymphal moyen (MPW) et poids nymphal supérieur (HPW). Dans un lot d'expériences, on accouple des femelles de poids nymphal moyen (MPW) séparément avec des mâles des trois groupes, c'est-à-dire LPW, MPW, HPW et un groupe d'accouplement aléatoire (pas de sélection) comme témoin pour étudier la corrélation entre la performance de la reproduction et les poids / les combinaisons de chrysalides mâles. Dans un autre lot d'expériences, on utilise des mâles au poids nymphal moyen [MPW] pour les accoupler séparément avec les femelles des trois groupes, c'est-à-dire LPW, MPW, HPW et un groupe d'accouplement aléatoire comme témoin pour étudier la corrélation entre les performances reproductives et les poids / les combinaisons de chrysalides femelles.

On accouple les mâles et les femelles des différents groupes de poids nymphal venant d'émerger à 8 heures du matin dans des cages à cocons séparées. On enregistre l'émergence et les pourcentages d'accouplement en fonction des combinaisons, en laissant 8 heures pour l'accouplement, c'est-à-dire jusqu'à 4 heures de l'après-midi et on conserve les femelles désaccouplées individuellement dans des boîtes à papier pour la ponte. On recueille les œufs de chaque papillon femelle au bout de 72 heures, on enregistre la fécondité et on les incube dans des conditions optimales jusqu'à l'éclosion. On laisse les œufs éclore pendant trois jours pour calculer le pourcentage d'éclosion. On laisse les œufs éclore jusqu'au dernier pour connaître le nombre d'œufs fécondés et pour calculer le pourcentage de fertilité. L'expérience réalisée pendant les deux saisons de grainage sur deux ans et les données recueillies avec six répétitions pour chaque lot de groupes accouplés, concernant différents paramètres, est soumise à l'analyse statistique.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'ANOVA des groupes mâles au poids nymphal faible, moyen et élevé par rapport au groupe de femelles au poids nymphal moyen concernant la performance de reproduction des écoraces Daba et Jata (Tableau I) indique une variation significative (aux seuils de 0,1 % et 5 %) parmi les traitements, sauf pour l'émergence chez la race Daba. L'ANOVA des groupes de femelles au poids nymphal faible, moyen et élevé par rapport au groupe mâle de poids nymphal moyen concernant la performance reproductive des écoraces Daba et Jata (Tableau II) présente une variation significative (aux seuils de 0,1 % à 5 %) entre les traitements. La fécondité et la fertilité chez les deux races et le pourcentage d'éclosion chez Daba donnent des différences très significatives (au seuil de 0,1 %).

Les résultats des performances de reproduction des groupes mâles de poids nymphal faible, moyen et élevé par rapport au groupe de femelles de poids nymphal moyen chez les écoraces Daba et Jata (Tableau III) indiquent une amélioration positive avec le groupe mâle de poids nymphal moyen, par rapport au groupe accouplé de manière aléatoire. On enregistre le changement positif le plus élevé

pour l'éclosion chez les deux races (+23,8 et + 25,1 %), en plus de l'émergence (+ 37,8 %) et de l'accouplement (+ 37,7 %) chez Jata, par rapport au groupe aléatoire. On enregistre l'émergence (85,6%), l'accouplement (88,3 %) et l'éclosion (86,1 %) les plus élevés chez Jata et la fécondité (256) et la fertilité (96,22 %) les plus élevées chez Daba avec le groupe de mâles au poids nymphal moyen entre les deux races. Cependant, on enregistre les performances les moins bonnes pour tous les autres paramètres, sauf pour l'accouplement chez la race Jata.

Les résultats sur les performances reproductives des groupes de femelles au poids nymphal faible, moyen et élevé avec le groupe de mâles au poids nymphal moyen chez les races Daba et Jata (Tableau IV) indiquent une amélioration positive avec le groupe de mâles au poids nymphal moyen, par rapport au groupe accouplé de manière aléatoire. On enregistre le changement positif le plus élevé pour l'éclosion (+24,8 %), l'émergence (+18,6 %) et la fécondité (+ 15,2 %) chez Daba et pour la fécondité (+ 22,0%), l'émergence (+18,3 %) et l'éclosion (+13,7 %) chez Jata, par rapport au groupe accouplé de manière aléatoire. On enregistre l'émergence (85,5 %), la fécondité (281), l'éclosion (86,6 %) et la fertilité (95,80 %) les plus élevées chez la race Daba, tandis qu'on enregistre l'accouplement le plus élevé (81,7%) chez Jata avec le groupe de femelles de poids nymphal moyen. On enregistre les moins bonnes performances pour l'émergence, l'accouplement et la fécondité chez Jata et l'éclosion et la fertilité chez Daba. Les niveaux de performance entre les groupes mâles de poids nymphal se classent dans l'ordre décroissant suivant : groupe nymphal moyen, aléatoire, inférieur et élevé, tandis que chez les groupes femelles le poids nymphal se classe dans l'ordre décroissant : moyen, aléatoire, supérieur et inférieur.

Les résultats des Tableaux V et VI indiquent les niveaux d'écart pour la performance de reproduction des groupes mâles au poids nymphal faible et élevé par opposition au groupe moyen, quand on les accouple avec le groupe de femelles au poids nymphal moyen et inversement. Les pourcentages d'écarts sont négatifs à la fois chez les groupes de mâles de poids nymphal faible et élevé, avec un écart plus élevé chez le groupe de poids nymphal élevé chez les deux races. On enregistre la variation maximum de la performance entre les groupes de mâles à poids nymphal faible et élevé pour l'accouplement, suivi par la fécondité et la fertilité chez les écoraces Daba et Jata. Cependant, les pourcentages d'écart sont négatifs chez les groupes de femelles de poids nymphal à la fois faible et élevé, avec l'écart le plus élevé chez le groupe nymphal faible chez les deux races. On enregistre la variation maximum de la performance entre les groupes de femelles de poids nymphal faible et élevé pour la fécondité, suivie par les pourcentages d'émergence et d'accouplement chez les deux écoraces Daba et Jata.

La performance de reproduction des insectes varie en fonction des facteurs climatiques externes, en plus de l'état physiologique des parents impliqués. La corrélation entre les tailles des cocons, des chrysalides, des papillons etc... et les performances reproductives des insectes économiques est d'une importance vitale pour rendre leur élevage viable sur le plan commercial. Les variations significatives entre les traitements pour les paramètres de reproduction chez les différents groupes mâles par rapport au groupe de femelles standard et inversement chez les écoraces Daba et Jata indiquent l'importance et l'impact de la sélection parentale, d'après le poids nymphal ainsi que leurs combinaisons, pour l'amélioration de la quantité et de la qualité des graines commerciales. Les paramètres étudiés sont cruciaux même pour l'économie de la production commerciale de grainage et l'utilisation des bons parents et de leurs combinaisons peut optimiser l'utilisation des matières premières et la production des produits finaux pour un grainage tassar commercial de qualité.

Les meilleures performances des mâles du groupe de poids nymphal moyen par rapport au groupe aléatoire chez les deux écoraces indiquent le rôle du mâle dans la reproduction. Malgré l'apport d'un meilleur composant femelle, le succès optimal de la reproduction dépend de la disponibilité d'un homologue mâle approprié. L'éclosion, le caractère le plus associé à la fertilité de l'œuf, dépend du potentiel du papillon mâle en termes de transfert de sperme avec les sécrétions des glandes accessoires, qui pourrait être la raison de la meilleure performance des mâles du groupe de poids moyen, quand

on les accouple avec le groupe femelle de même poids. Les résultats sont conformes aux observations faites par Ravi Kumar et coll., 1995 ; Krihsnaprasad et coll., 2002 ; Biswas et Ray, 2005. Par ailleurs, les meilleures performances d'émergence et d'accouplement des mâles du groupe moyen montrent l'impact de la sélection des cocons sur la reproduction, qui joue certainement un rôle vital pour la quantité et la qualité des graines commerciales. Les meilleures performances des femelles du groupe de poids nymphal moyen par rapport au groupe aléatoire chez les deux races indiquent le rôle de la femelle dans la reproduction. Malgré l'apport d'un meilleur composant mâle, le succès optimal de la reproduction dépend de la présence d'un homologue femelle approprié. La santé et la taille du papillon femelle contribue à l'émergence optimale, suivie par un meilleur accouplement et une ponte d'œufs plus fertiles (Jayaswal et coll., 1991 ; Ravindra Singh et coll., 1994 ; Ghosh et coll., 1996 ; Yadav et coll., 2001 ; He et Wang, 2006 ; Hazarika et coll., 2007). Cela pourrait être la raison de la meilleure performance du groupe de femelles de poids moyen, quand on les accouple avec les mâles du même groupe de poids. Cela indique aussi le rôle des combinaisons entre les parents mâles et femelles dans le succès optimal de la reproduction. Par ailleurs, les meilleures performances d'émergence et d'éclosion du groupe de femelles de poids moyen chez les deux races montrent leur rôle dans la reproduction supérieure et donc dans l'obtention d'un meilleur rendement en œufs. La réussite optimale de la reproduction n'est possible qu'avec une combinaison d'accouplement correcte des deux sexes, qui fait transférer le sperme requis ainsi que les sécrétions essentielles de la glande reproductrice par le mâle pour donner à la femelle une fécondité importante avec une fertilité optimale pour la durabilité commerciale de l'industrie de la production de grainage du ver à soie tasar.

L'écart négatif des performances de la reproduction chez les deux sexes entre les groupes de poids nymphal élevé et faible par rapport au groupe moyen confirme d'avantage la corrélation entre les poids des chrysalides et la reproduction à la fois chez les écoraces Daba et Jata d'*Antheraea mylitta*. Mais, la tendance différente entre les mâles et les femelles indique que les groupes mâles de poids nymphal moyen à faible et les groupes femelles de poids nymphal moyen à élevé conviennent potentiellement. Ces résultats confirment les observations et les rapports antérieurs de Singh et Prasad, 1987 ; Kotical et coll., 1989 ; Jayaswal et coll., 1991 ; Ravindra Singh et coll., 1994 ; Yadav et coll., 2001 ; Calvo et Molina, 2005 chez *Bombyx mori*, *Antheraea proylei*, *Antheraea paphia*, *Samia cynthia ricini*, *Philosomia ricini*, *Spodoptera mauritta*, *Streblote panda* et chez d'autres lépidoptères.

L'étude montre que les poids des chrysalides mâles et leurs combinaisons sont corrélés avec l'accouplement, la fécondité et la fertilité et les poids des chrysalides femelles et leurs combinaisons sont corrélés avec la fécondité, l'émergence et l'accouplement à la fois chez les écoraces Daba et Jata. Cela montre que la sélection de cocons de grainage moyens à inférieurs chez les mâles et moyens à supérieurs chez les femelles peut optimiser la productivité du grainage commercial du tasar et la qualité en général pour une distinction facile des cocons de grainage en fonction des races et des sexes, en particulier pour la production de graines hybrides.

