

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

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

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION
EDITORIAL BOARD

AKAPANTHU S. (Thaïlande / *Thailand*)
BEAULATON J. (France)
BECK D. (France)
BOSQUET G. (France)
CROIZIER G. (France)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / *India*)
DAS B.C. (Inde / *India*)
DATTA R.K. (Inde / *India*)
DOÏRA H. (Japon / *Japan*)
FONSECA T.C. (Brésil / *Brazil*)
FOURCHE J. (France)
FREDDI G. (Italie / *Italy*)
GOLDSMITH M.R. (USA)
HORIE Y. (Japon / *Japan*)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde / *India*)
KOBAYASHI M. (Japon / *Japan*)
LEA H. Z. (Corée / *Korea*)

LEGAY J.-M. (France)
LIU S.-X. (Chine / *China*)
LU H.-S. (Chine / *China*)
MANO Y. (Japon / *Japan*)
MAUCHAMP B. (France)
PERSOONS C.J. (Pays-Bas / *The Netherlands*)
PRUDHOMME J.-C. (France)
REALI G. (Italie / *Italy*)
SHIMURA K. (Japon / *Japan*)
SHIRATA A. (Japon / *Japan*)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / *India*)
SONWALKAR T.N. (Inde / *India*)
TAKAHASHI R. (Brésil / *Brazil*)
TAZIMA Y. (Japon / *Japan*)
TRENCZEK T. (Rép. tchèque / *Czech Republic*)
VAGO C. (France)
VEY A. (France)
XIA J.-G. (Chine / *China*)
YAMASHITA O. (Japon / *Japan*)
YANAGAWA H. (Japon / *Japan*)

SOMMAIRE - CONTENTS

Articles scientifiques / Scientific papers

- An analysis of genetic divergence in Indian multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) germplasm** 337
 Analyse de la divergence génétique chez les germoplasmes de ver à soie (*Bombyx mori* L.) polyvoltins indiens 349
 P. MUKHERJEE, S. MUKHERJEE & P. KUMARESAN
- Detection and estimation of components of genetic variation in some bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) populations. II. Additive and dominance gene effects** . . . 353
 Détection et estimation des composants des variations génétiques chez quelques populations de vers à soie bivoltins (*Bombyx mori* L.) . II Effets des gènes additifs et dominants 365
 A. S. KAMILI, M. AMIN MASOODI & G. H. ZARGAR
- Colour diversity among cocoons of tropical tasar ecoraces of *A. paphia* and *A. mylitta* D. (Lepidoptera: Saturniidae) at three different altitude zones in Orissa** . . . 371
 Diversité de couleurs des cocons chez les écoraces de tasar tropical *A. paphia* L. et *A. mylitta* D. (Lepidoptera : Saturniidae) à trois altitudes différentes en Orissa 383
 B. K. NAYAK, K. B. G. PATRO & M. C. DASH
- Morphological and histopathological changes in rust-infected mulberry leaf** 387
 Modifications morphologiques et histopathologiques chez la feuille de mûrier infestée par la rouille 397
 K. V. PRASAD, B. R. DAYAKAR YADAV & S. B. SULLIA
- Penetration and establishment of *Peridiopsisora mori* in mulberry leaf** 403
 Pénétration et établissement de *Peridiopsisora mori* dans la feuille de mûrier 411
 K. V. PRASAD, B. R. DAYAKAR YADAV & S. B. SULLIA

Rapports techniques / Technical reports

- Physiobiochemical changes in thrips infected mulberry leaves** 417
 Changements biochimiques chez les feuilles de mûrier attaquées par des thrips 423
 T. SENGUPTA, A. K. MISRA, C. DAS, K. K. DAS, S. K. SEN & B. SARATCHANDRA
- Severity of rust disease on mulberry under different planting densities** 427
 Sévérité de la maladie de la rouille chez le mûrier sous différentes densités de plantations . . . 435
 K. V. PRASAD, B. R. DAYAKAR YADAV & S. B. SULLIA
- Accumulation of certain organic metabolites in different mulberry genotypes during NaCl salinity** 441
 Accumulation de certains métabolites organiques chez différents génotypes de mûrier soumis à une salinité en NaCl 447
 S. SHAIK MOHAMED ANAS & M. VIVEKANANDAN

Changes in physio-biochemical parameters of mulberry leaves (<i>M. alba</i> L.) var S1 infected by sooty mould	451
Modifications des paramètres physio-biochimiques chez les feuilles de mûriers var S1 (<i>M. alba</i> , L.) infestées par la moisissure fuligineuse	
C. DAS, M. SETUA, S. CHATTERJEE, T. SENGUPTA, K. K. DAS, S. M. H. QADRI & B. SARATCHANDRA	457

Effect of blue-green algae on chemical and nutritional properties of salt - affected soil of mulberry garden, productivity of mulberry and its economics	459
Effet d'algues bleu-vert sur les caractéristiques chimiques et nutritionnelles d'un sol salin de champ de mûrier, sa productivité et sa rentabilité	
P. C. BOSE & S. K. MAJUMDER	467

Note brève / Brief note

Record of the pupal parasitoids - <i>Nesolynx thymus</i> (Girault) and <i>Nesolynx depterae</i> (Risbec) (Hymenoptera: eulophidae) from the oak tasar uzifly <i>Blepharipa zebina</i> . . .	469
Nouveaux parasitoïdes - <i>Nesolynx thymus</i> Girault et <i>Nesolynx depterae</i> Risbec (Hymenoptera : eulophidae) de la mouche uzi <i>Blepharipa zebina</i> du tasar du chêne . . .	
M. V. CHALAPATHY, N. IBOHAL SINGH & B. PRASAD	471

Bibliographie / Bibliography	475
Sériciculture générale / General sericulture	477
Mûrier / Mulberry	479
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology .	481
Séricigènes non mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	487
Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics	489
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry	493
Vers à soie : oeufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology	497
Glandes séricigènes / Silk glands	499
Soie / Silk	501

Instructions aux auteurs / Information for contributors

AN ANALYSIS OF GENETIC DIVERGENCE IN INDIAN MULTIVOLTINE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) GERMPLASM

P. MUKHERJEE, S. MUKHERJEE & P. KUMARESAN

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, P.B. No. 44, Thally Road, Hosur - 635 109,
Tamil Nadu, India.

*Genetic divergence analysis was carried out in 56 (46 indigenous and 10 exotic) multivoltine silkworm germplasm, following hierarchial clustering (complete linkage) method. The pooled data of five rearings on yield and yield parameters were used for the analysis which indicated two major groups and further sub-grouping resulted into six clusters where **C. nichi** and **Pure Mysore** formed separate clusters with single entity highlighting the genetic diversity between the two breeds and with that of rest of the breeds. Exotic breeds were distributed among the various clusters and grouped with indigenously evolved races thereby revealed the importance of genetic diversity over the geographical origin of the breeds. Weight of the mature larvae followed by total larval duration and cocoon weight were mainly responsible for differentiating the breeds evident from the contribution of these traits towards total divergence. The study further highlights the superiority of the breeds evolved in South India involving **Pure Mysore** over the breeds of Eastern India evolved through incorporation of genes from Nistari.*

Keywords : Hierarchial clustering, multivoltine silkworm, genetic vs diversity.

INTRODUCTION

In India more than 90 % of silk is still produced involving multivoltine silkworm breeds either in pure hybrid form or crossed with bivoltine, being the male component. Selection of diverse genotypes is important for exploitation of heterosis and development of desirable recombinants.

Knowledge of nature and magnitude of genetic divergence between the genotypes is the basic necessity to identify the probable parents for hybridization. Comprehensive genetic divergence studies in multivoltine silkworm involving the entire germplasm in India are not many (Subba Rao *et al.*, 1991) and almost non-existent except one reported earlier (Chatterjee *et al.*, 1993). Therefore, the present study was undertaken to ascertain the nature and magnitude of genetic diversity in 56 multivoltine silkworm breeds representing almost the entire germplasm stock presently available in the country.

MATERIALS AND METHOD

In the present study, 56 multivoltine silkworm breeds being maintained at Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Hosur, were used which represents 46 indigenous and 10 exotic breeds as per details given in Table I. Five rearings were conducted during 1995 following standard recommendations (Krishnaswamy, 1978) with two replications in Randomised Block Design. Composite layings from twenty disease free layings were used initially. Thereafter, three hundred healthy larvae from each of the breed/replications were retained while counting the entire lot after third moult out. In each rearing data on nine parameters namely, fecundity (no. of eggs laid by a female

moth), weight of mature larvae (g), total larval duration (hrs.), V^{th} age larval duration (hrs.), cocoon yield/10 000 larvae by number and weight (g), average single cocoon weight (g), average cocoon shell weight (g) and shell ratio percent were recorded. Observation on matured larval weight was recorded from ten randomly selected larvae at V^{th} age on 4th day. On completion of rearing cocoons were harvested on 8th day from the date of spinning for each of the breeds. Cocoon and shell weight were recorded from ten male and ten female cocoons randomly chosen.

The average of five crop data was considered for different analysis. Initially, the estimates of two replications over five crops were pooled separately and thereafter averages worked out. Agglomerative hierarchical cluster analysis employing the method of complete linkage between groups as per Sneath and Sokal (1973) was done using INDOSTAT Services, Hyderabad, India software on replicated data. The complete linkage method was used since in general it leads to tight, hyperspherical, discrete clusters that join others only with difficulty and at relative low overall similarity values. The clustering was done based on the squared Euclidean distance and the distance measured as,

$$d_{ij} = \sum_i (X_{ik} - X_{jk})^2$$

where d_{ij} is the distance between points i and j ; X_{ik} is the value of the k^{th} variables for the i^{th} entity. The complete linkage between two groups was taken as the distance between all pairs of cases with one member of an extant cluster having similarity to the farthest member within the cluster. The estimates of nine variables were subjected to error matrix transformations prior to the analysis of clustering. The dendrogram was realised on actual squared Euclidean distance matrix.

RESULT AND DISCUSSION

The analysis of variance carried out involving 56 multivoltine breeds for all the characters were highly significant indicating considerable variation among the breeds. The dendrogram drawn by hierarchical clustering following complete linkage method based on Euclidean distance (Fig. 1) revealed that 56 breeds were distributed in two major classes. The dendrogram obtained was further divided into six distinct clusters (Table II), determined by the ratio of interclass on total variance. The cluster II had the largest group of breeds (21 Nos.) followed by cluster I (18 Nos.) and cluster III (12 Nos.). Cluster V had 3 breeds whereas cluster IV and VI were characterised with only one breed each.

A scrutiny of the breeds into different clusters further revealed the different regional indigenous and geographical races like Sarupat (Assam), Tamil Nadu White (Tamil Nadu) and Guang Nuang Plain in cluster I, Moria (Assam) and Rong Daizo (China) in cluster II, NK₄ (Thailand) and Cambodge (Cambodia) in cluster III and Raj (Bangladesh) and Daizo (China) in cluster V were distributed along with indigenously evolved breeds. The pattern of group constellation proved that geographical diversity though important is not the determining factor for genetic diversity. The result observed in the present study substantiate the observations made earlier by Jolly *et al.*, (1989). The genotypes grouped into different clusters were based only on their close and/or distant genetic distances, evident from the D values. The selection of breeds for hybridisation thus should be entirely based on genetic diversity and thereafter combining ability.

It was interesting to note that the single entities, *Pure Mysore* in cluster VI is considered to be 200 years old Chinese race brought in India whereas present day, *C. nichi*, in cluster IV originated from Japanese temperate bivoltine breed (Dutta, 1984). On continuous rearing over more than two centuries under Southern Tropical climate these breeds are well adapted to the condition and voltinism changed to multivoltine. *C. nichi* cocoons are smallest thereby yield attributes are on the lower side whereas *Pure Mysore* is characterised with the longest larval duration which again revealed that the two breeds were placed in two different clusters separately from rest of the breeds only because of their genetic characteristics and not merely for their geographical origin alone. The wide diversity between *Pure Mysore* and *C. nichi* and their distinct genetic divergence with rest of the breeds have also been reported earlier (Chatterjee *et al.*, 1993).

*Table 1. Name, parents involved and origin of 56 multivoltine silkworm breeds.**Tableau 1. Nom, parents concernés et origine de 56 lignées de vers à soie polyvoltins.*

Acc. No.	Name of the breed	Parents involved	Origin
N° de souche	Nom de la lignée	Parents concernés	Origine
MI-01	Pure Mysore	GR	KAR
MI-02	Sarupat	GR	ASM
MI-03	Moria	GR	ASM
MI-04	Tamilnadu White	PM, J122	TNU
ME-05	C. nichii	GR	Japan
MI-06	Hosa Mysore	PM, A4 ²	KAR
MI-07	Mysore Princess	PM, NN6D, Hosho, Shungetsu	KAR
MI-08	Kolar Gold	PM, NN6D, Hosho, Shungetsu	KAR
MI-09	Kollegal Jawan	PM, NN6D, Hosho, Shungetsu	KAR
MI-10	MY-1	PM, Nistari	KAR
MI-11	P2D1	PM, Daizo, NB2C1	KAR
ME-12	Rong Daizo	Chinese hybrid	China
ME-13	Guangnong Plain	Guangnong	China
MI-14	OS-616	Oval, S-15	WRL
ME-15	Raj	GR	BNG
MI-16	G	N(X-ray), M2, CB1, KPG-B	WBL
MI-17	Nistari	GR	WBL
MI-18	Nistari (M)	Nistari	WBL
MI-19	Nistari (P)	Nistari	WBL
MI-20	ZPN (SL)	Zebra(SL), N	WBL
MI-21	CB5	N(M), M2, KB, N122, C110, C124, J124	WBL

Table 1 (Continued).

Tableau 1. (Suite).

Acc. No.	Name of the breed	Parents involved	Origin
<i>N° de souche</i>	<i>Nom de la lignée</i>	<i>Parents concernés</i>	<i>Origine</i>
MI-22	KW2	Nistari	WBL
MI-23	M2	N(Chemical Mutant)	WBL
MI-24	A23	N, M2, O, G	WBL
MI-25	A25	N, M2, O, G	WBL
MI-26	Oval	N(X-ray), M2, KPG-B, CB-1	WBL
MI-27	O	N, J122, NN6D, KA, KB	WBL
MI-28	M83(C)	M83(Eur), N	WBL
MI-29	B	N, KPG-B	WBL
ME-30	Guangnong(M)	GR	China
MI-31	A14DY	N122, C110, N124, 124, N	WBL
MI-32	A4E	MYS1, BW, MYS, N122, C110	WBL
MI-33	PA12	PM, A4 ^c	KAR
MI-34	AP12	A4 ^c , PM	KAR
MI-35	A13	PM, KA	KAR
MI-36	PM(Irradiation)	KAR	
MI-37	PMS2	PM(Irradiation)	KAR
MI-38	MU-1	PM(Irradiation)	KAR
MI-39	MU-11	PM, NB18	KAR
MI-40	WA1-1	N(Mutation)	MHA
MI-41	WA1-4	N(Mutation)	MHA
MI-42	MY23	HM, Nistari, PM, HM, PA11	KAR

Table 1 (Continued).

Tableau 1. (Suite).

Acc. No.	Name of the breed	Parents involved	Origin
<i>N° de souche</i>	<i>Nom de la lignée</i>	<i>Parents concernés</i>	<i>Origine</i>
MI-43	MW13	PM, MP, NB7	KAR
MI-44	MHMP(W)	PM, HM, MP	KAR
MI-45	MHMP(Y)	PM, HM, MP	KAR
MI-46	P4D3	PM, Daizo, NB4D1	KAR
ME-47	Nistid(Y)	N, Italian race	BNG
ME-48	Nistid(W)	N, Italian race	BNG
ME-49	NK4	GR	THI
ME-50	Cambodge	GR	CAMBO
ME-52	Daizo	GR	China
MI-53	LMP	N, N(Mutation)	WBL
MI-54	DMR	N, N(Mutation)	WBL
MI-55	LMO	N, N(Mutation)	WBL
MI-56	MY1(SL)	AP1-SL, MY1	KAR
MI-57	PM(SL)	AP1-SL, PM	KAR

Where :

GR=Geographical Race / *Race géographique***KAR**=Karnataka**ASM**=Assam**TNU**=Tamil Nadu**WBL**=West Bengal**MHA**=Maharashtra**BNG**=Bangladesh**THI**=Thailand**CAMBO**=Cambodia**PM**=Pure Mysore**N**=Nistari**HM**=Hosa Mysore**M**=Marked/*marquée***P**=Plain/*nature***W**=White/*blanche***Y**=Yellow/*jaune*

COMPLETE LINKAGE DENDROGRAM

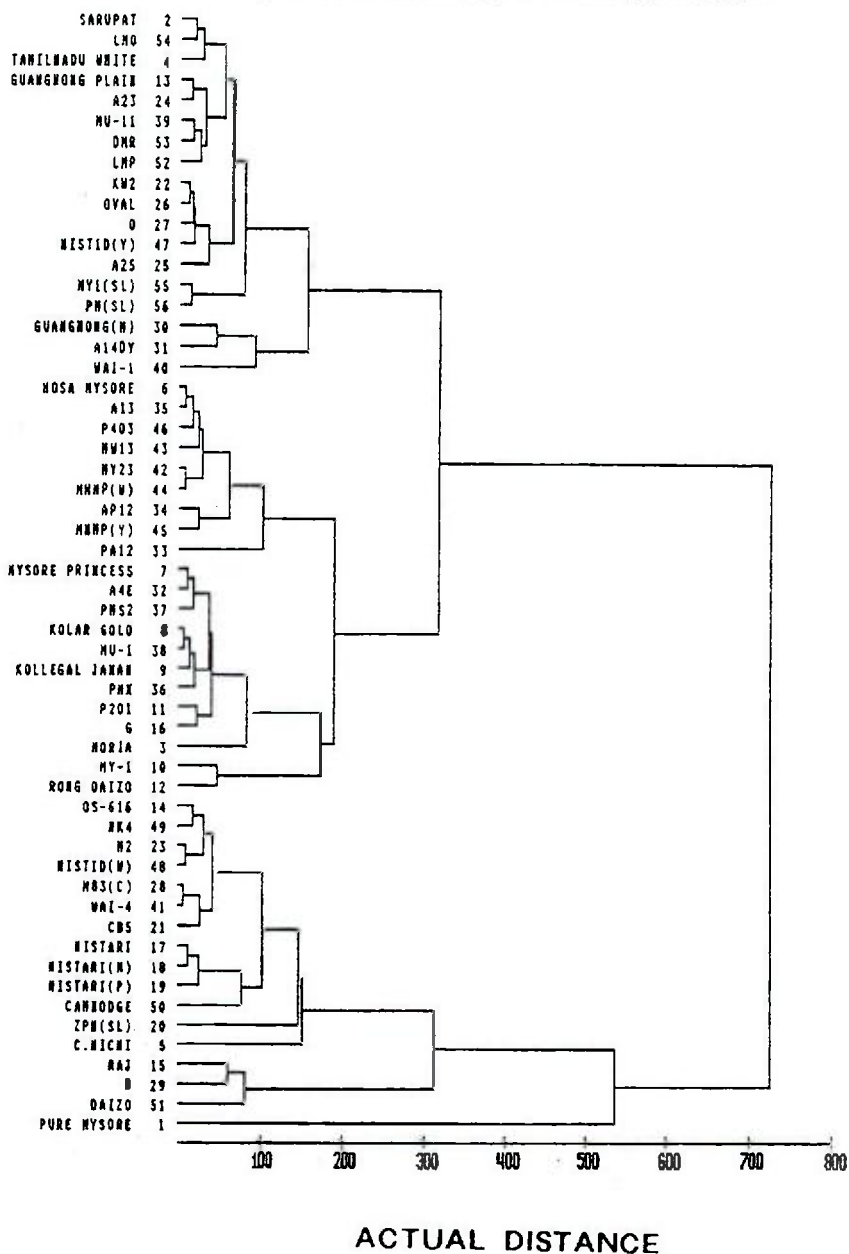


Figure 1. Dendrogram based on actual distance obtained from hierarchical clustering analysis for nine yield parameters from 56 multivoltine silkworms over five seasons.

Figure 1. Dendrogramme basé sur la distance réelle obtenue à partir d'une analyse des agrégats hiérarchisée pour neuf paramètres d'élevages chez 56 vers à soie polyvoltins englobant cinq saisons.

Table II. Distribution of 56 multivoltine silkworm accessions in different clusters.

Tableau II. Répartition des 56 souches de vers à soie polyvoltins dans différents groupes.

Cluster	N° of breeds	Name of breeds
Groupe	N° des lignées	Nom des lignées
I	18	Sarapat, LMO, Tamil Nadu White, Guangnong (P), A23, MU-11, DMR, LMP, KW2, Oval, O, Nistid(Y), A25, MY1(SL), PM(SL), guangnong(M), A14Dy, WAI-1
II	21	Hosa Mysore, A13, P4D3, MW13, MY23, MHMP(W), AP12, MHMP(Y), PA12, Mysore Princess, A4E, PMS2, Kolar Gold, MU-1, Kollegal Jawan, PMX, P2D1, G, Moria, MY-1, Rong Daizo
III	12	OS-616, NK4, M2, Nistid(W), M83(C), WAI-4, CB5, Nistari, Nistari(M), Nistari(P), Cambodge, ZPN(SL)
IV	1	C. Nichi
V	3	Raj, B, Daizo
VI	1	Pure Mysore

Out of the 12 genotypes in cluster III, 10 of them are different forms of *Nistari*. The breeds, NK4 and Cambodge were procured from Japan, but originated in Thailand (Kantaratanakul, 1987) and Cambodia (Kobayashi, 1990) respectively. Apart from this, Raj and Daizo grouped with a derivative (B) from indigenous race in clusters V. This may be due to their close genetic relation with Indian races which might have arisen out of free and frequent exchange of genetic materials. Such relationship has also been observed by Chatterjee, *et al.*, 1993 a&b.

It was worth noting that in cluster II most of the genotypes were evolved through hybridisation and/or mutation by involving a common parent, 'Pure Mysore'. A similar situation was almost repeated in cluster I and III where majority of the breeds evolved involving 'Nistari' as one of the combiners. In India, there are two main Sericultural Research Institutes, located in Southern dry tropical (Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore) and Eastern humid tropical (CSRTI, Berhampore) agroclimatic zones conducting breeding on multivoltine silkworm. *Pure Mysore* and *Nistari*, the oldest among indigenous multivoltine races, are still popular among the farmers respectively in Southern and Eastern India. Consequently, these races are used extensively to exploit their adaptability in various breeding programmes in Research Institutes resulting in genotypes almost with similar genetic background and hence grouped together. Apart from this, directional selection for few particular traits in keeping with the regional priorities also might have played an important role in different breeding programmes over the years in evolving genotypes with somewhat narrow genetic base. Jolly *et al.* (1989) also observed that breeds derived from the same source were included in the same cluster showing a close affinity between advanced sister lines. While

studying genetic divergence in 18 multivoltine strains, Govindan *et al.* (1992) noticed that breeds derived from same ancestry were included in different clusters and those of differing genetic background occupied a single cluster indicating the uniformity in their selection procedure. The low productivity in terms of both quality as also quantity of Indian multivoltine breeds may be due to one of the reasons that they possess narrow genetic base and fail to perform under varied environmental and geographical conditions. It necessitates, thus, to involve more diverse parental stocks with wide ranging yield and its attributes in future breeding programmes by Research Institutes in order to evolve breeds with broad genetic base to withstand varying climatic conditions.

Table III. Average intra-(in bold) and inter-cluster distances in 56 multivoltine silkworm.

Tableau III. Distances moyennes intra-(en caractères gras) et inter-groupes chez 56 vers à soie polyvoltins.

Clusters	I	II	III	IV	V	VI
<i>Groupes</i>						
I	7.169	10.399	10.588	13.817	11.265	20.543
II		7.483	16.873	19.552	16.26	22.207
III			7.176	10.804	9.943	20.175
IV				0.000	16.502	22.363
V					8.467	18.332
VI						0.000

The inter-cluster distances were greater than intra-cluster distances, revealing that the breeds studied were genetically diversified (Table III). The Wilk's criteria (1454.75) at df 495 determined by the χ^2 - test indicated that all the D^2 values calculated were higher than the table value and hence significant. The maximum inter-cluster Euclidean distance values were recorded between cluster IV and VI (22.364), while the divergence was minimum between cluster III and V (9.943). The intra-cluster divergence ranged from 7.169 (cluster I) to 8.467 (cluster V). Inter cluster distance is the major criterion for selection of genotypes (using distance matrix analysis). Genotypes belonging to the clusters with maximum inter-cluster distance are genetically more divergent and hybridization between genotypes of divergent clusters is likely to produce wide variability with desirable segregants.

(Jolly *et al.*, 1989 and Subba Rao *et al.*, 1989) whereas Arunachalam and Bandyopadhyay (1984) and Arunachalam *et al.* (1984) advocated that a cross between two parents whose genetic divergence falls within mean $\pm$ standard deviation has a higher chance of manifesting heterosis and corroborated by Razdan *et al.* (1994 a,b) in silkworm. Hence, due care is needed in selecting the parents from within and between the clusters. A scrutiny of squared Euclidean distance matrix of 56 multivoltine breeds revealed that *Pure Mysore* (cluster VI) and WAI-1 (cluster I) are farthest apart (724.22) whereas Kolar Gold and MU-1 of cluster II are genetically closest (5.51) breeds amongst themselves.

Table IV. Cluster means of nine characters in different clusters of multivoltine silkworm.

Tableau IV. Moyennes des groupes pour neuf caractéristiques dans différents groupes de vers à soie polyvoltins.

Cluster No.	Fecundity	Wt. of mature larva	Total larval period	V age larval period	Cocoon yield/ 10 000 larvae (bv no) (by wt.)		Cocoon weight (gm)	Shell weight (gm)	Shell ratio (%)
N° de Groupe	Fécondité	Poids de la larve	Période larvaire totale	Période du 5ème âge larvaire	Rendement en cocons/ pour 10 000 larves en nbre en poids		Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
I	425.34	24.58	560.00	141.74	7953.87	8.99	1.145	0.164	14.317
II	442.00	27.76**	565.81	145.35	8094.54	10.35*	1.288**	0.192**	14.924**
III	382.02*	21.14	561.52	141.55	8041.41	7.88*	1.004	0.140	14.024
IV	399.50	20.95	548.40*	114.00*	8472.00**	8.63	1.000	0.132*	13.107*
V	420.00	20.70	580.20	167.00	7664.21*	8.04	1.057	0.154	14.708
VI	483.30**	2.34*	634.20**	185.8**	8427.48	8.01	0.990*	0.135	13.746
Mean	433.60	24.69	564.71	144.70	827.57	9.19	1.160	0.170	14.470
Moyenne									
S.D.	34.21	3.08	13.90	11.49	547.90	1.25	0.130	0.030	0.660
Character contribution (%)	9.35	38.25	17.08	9.29	2.600	4.35	11.950	2.270	4.870
Contribution des traits (%)									

* = Lowest / les plus basses

** = Highest / les plus hautes

The cluster means revealed appreciable variation for the various characters (Table IV). The breeds included in cluster II were characterised with highest weight of mature larvae, yield/10 000 larvae by weight, cocoon weight, shell weight and shell ratio percent, thus hold great promise as parents to obtain potential hybrids and create further variability for these traits. Cluster III had lowest fecundity and yield/10 000 larvae by weight whereas cluster V was lowest for yield/10 000 larvae by number. *C. nichi* of cluster IV was earliest in larval durations, and produced maximum cocoons by number while shell weight and shell ratio percent was lowest. On the other hand, *Pure Mysore* in cluster VI had highest fecundity, larval durations, comparatively high yield/10 000 larvae by number but lowest cocoon weight.

A comparative study of cluster means reveals that grouping of breeds in cluster III (which also includes all forms of *Nistari*) was mainly based on lowest fecundity, weight of mature larvae and yield/10 000 larvae by weight than the breeds in cluster I. Thus, in general, there was positive improvement in fecundity, weight of mature larvae and yield/10 000 larvae by weight in the genotypes (cluster I) evolved through incorporation of *Nistari* blood indicating also the emphasis given on these traits in breeding programme by the Research Institutes located in the Eastern region. Similarly, the superiority of derivatives of cluster II in respect of weight of mature larvae, yield/10 000 larvae by weight and the three cocoon characters over *Pure Mysore* (cluster VI) throws light on the direction of selection aimed at improvement in the Southern region.

The Table IV further revealed that the most important trait causing highest genetic divergence was weight of matured larvae, and was mainly responsible for differentiating the breeds. The total larval duration and cocoon weight were the next important traits contributed towards divergence. Shell weight, yield/10 000 larvae by number and weight and shell ratio percent had minimum contribution to the genetic divergence among the breeds studied. Low variability for these traits in such a wide variety of breeds may also suggest high degree of stability and heritability of these traits.

Finally, the cluster means analysis suggests that breeds evolved by involving *Pure Mysore* as one of the parents (cluster II) have an edge over the breeds evolved through incorporation or altering the genes of *Nistari* (cluster I and III), particularly in respect of weight of mature larvae, yield/10 000 larvae by weight, cocoon weight, shell weight and shell ratio percent besides fecundity. The impact of this superiority could be realised from the fact that more than 80 % of the multivoltine silk produced in the country is contributed by the Southern states and the rest from Eastern India. However, in both the cases, long term pre-breeding activities and base broadening programmes are envisaged.

REFERENCES

- ARUNACHALAM V., BANDYOPADHYAY A. (1984a) Limits to genetic divergence for occurrence of heterosis - experimental evidence from crop plants. *Indian J. Genet.*, 44(3): 548-554.
- ARUNACHALAM V., BANDYOPADHYAY A., NIGAM S.N., GIBBONS R.W. (1984b) Heterosis in relation to genetic divergence and specific combining ability in ground nut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica*, 33: 33-39.
- CHATTERJEE S.N., DATTA R.K. (1992) Hierarchical clustering of significance of biochemical parameters. *Theor. Appl. Genet.*, 85 (4): 394-402.
- CHATTERJEE S.N., RAMA MOHAN RAO P., JAISWAL K.P., RAVINDRA SINGH, DATTA R.K. (1993) Genetic Variability in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., breeds with low silk yield. *Indian J. Seric.*, 32 (1): 69-86.
- DATTA R.K. (1984) Improvement of silkworm races (*Bombyx mori* L.) in India. *Sericologia*, 24: 393-415.
- GOVINDAN R., RANGIAH S., NARAYANASWAMY T.K., DEVAIAH M.C., KULKARNI R.S. (1992) Genetic divergence among multivoltine genotypes of silkworm (*Bombyx mori* L.). In Nat. Conf. Mulberry Seric. Res., CSR&TI, Mysore, Dec. 10-11, Abstract No. 172.

- JOLLY M.S., DATTA R.K., NOAMANI M.K.R., IYENGAR M.N.S., NAGARAJ C.S., BASAVARAJ H.K., KSHAMA G., RAMA MOHANA RAO P. (1989) Studies on genetic divergence in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 29 (4): 545-559.
- KANTARATANAKUL S., THARVORNANUKULKIT C., WONGTHONG S., CHAREONYING S., CAMPIRANON A., SAKSOONG P. (1987) Diallel crosses with polyvoltine strains of Thai silkworm (*Bombyx mori* Linn.). *Sericologia* 27 (2): 279-286.
- KOBAYASHI J. (1990) Effect of photoperiod on the induction of egg diapause of tropical races of the domesticated silkworm, *Bombyx mori* L., and the wild silkworm, *B. mandarina*. *JARQ* 23: 202-205.
- KRISHNASWAMY S. (1978) New technology of silkworm rearing. CSR&TI, Mysore, Central Silk Board, India, Bulletin N°20.
- RAZDAN J.L., SIDDIQUI A.A., BALI R.K., MUKHERJEE P. (1994a) Study on the identification of region-specific heterotic crosses in *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 34 (2): 249-260.
- RAZDAN J.L., SIDDIQUI A.A., BALI R.K., MUKHERJEE P. (1994b) Identification of region specific silkworm (*Bombyx mori* L.) hybrids. *Sericologia*, 34 (4): 641-648.
- RAO C.R. (1952) Advanced statistical methods in biometric research. John Wiley and Sons, New York.
- SNEATH P.H.A., SOKAL R.R., (1973) Numerical Taxonomy WH Freeman and Co., San Francisco.
- SUBBA RAO G., DAS S.K., DAS N.K. (1991) Genetic divergence among fifteen multivoltine genetic stocks of silkworm (*Bombyx mori* L.) *Indian J. Seric.*, 30: 72-74.
- SUBBA RAO G., DAS S.K., DAS M.K., NAND S. (1989) Genetic divergence among bivoltine races of silkworm (*Bombyx mori*). *Ind. J. Agric. Sci.*, 59: 767-765.

ANALYSE DE LA DIVERGENCE GENETIQUE CHEZ LES GERMOPLASMES DE VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.) POLYVOLTINS INDIENS

P. MUKHERJEE, S. MUKHERJEE & P. KUMARESAN

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, P.B. No. 44, Thally Road, Hosur - 635 109,
Tamil Nadu, Inde.

*L'analyse des divergences génétiques a été menée sur 56 germoplasmes de vers à soie polyvoltins (46 indigènes et 10 exotiques) en suivant une méthode de groupements hiérarchisés (liaison complète). Les données rassemblées concernant le rendement de cinq élevages et les paramètres du rendement ont été utilisées pour l'analyse qui a mis en avant deux groupes majeurs et six sous groupes où *C. nichi* et Pure Mysore forment deux groupes distincts avec une seule entité mettant en évidence la diversité génétique entre les deux lignées et avec les autres lignées. Les lignées exotiques sont distribuées dans différents groupes avec des races indigènes développées, révélant de ce fait l'importance de la diversité génétique en fonction de l'origine géographique des lignées. Le poids des larves matures suivi par la durée de la période larvaire totale et le poids du cocon sont les éléments principaux de différenciation des lignées si l'on prend en compte la contribution de ces caractères dans la divergence totale. Cette étude met en évidence la supériorité des lignées issues d'Inde du sud (comprenant *Pure Mysore*) sur les lignées de l'Est de l'Inde développées avec l'incorporation de gènes de *Nistari*.*

INTRODUCTION

En Inde, plus de 90 % de la soie est encore produite grâce aux lignées de vers à soie polyvoltins, aussi bien sous forme hybride pure ou croisés avec un bivoltin, celui-ci étant le composant mâle. La sélection de divers génotypes est importante pour l'exploitation de la vigueur hybride et le développement des recombinants désirés.

La connaissance de la nature et de l'ampleur de la divergence génétique entre les génotypes est de première importance pour l'identification des parents probables pour une hybridation. Les études intégrales sur les divergences génétiques chez le ver à soie polyvoltin concernant la totalité des germoplasmes indiens sont peu nombreuses (Subba Rao et coll., 1991) et pratiquement inexistantes si l'on excepte celle de Chatterjee et coll., (1993). Cette étude a été entreprise afin de s'assurer de la nature et de l'ampleur de la diversité génétique chez 56 lignées de vers à soie polyvoltins représentant presque la totalité du stock des germoplasmes disponible dans le pays.

MATERIELS ET METHODES

Dans cette étude, nous avons utilisé 56 lignées de vers à soie polyvoltins (46 indigènes et 10 exotiques) maintenues au 'Silkworm and mulberry Germplasm Station', à Hosur (voir les détails dans le Tableau I). Cinq élevages ont été entrepris en 1995 en suivant les recommandations usuelles (Krishnaswamy, 1978) avec deux répétitions selon un plan en blocs aléatoires. Nous avons d'abord utilisé des pontes composites provenant de 20 pontes saines. Ensuite, 300 larves saines de chaque lignée / répétition ont été retenues, après avoir dénombré le lot entier après la troisième mue. Dans

chacun des cas neuf paramètres ont été mesurés, c'est à dire, la fécondité (nombre d'oeufs pondus par un papillon femelle), le poids d'une larve mature (g), la durée larvaire totale (heures), la durée du Vème âge larvaire, le rendement en cocons/10 000 larves en nombre et en poids (g), la moyenne du poids d'un cocon (g), la moyenne du poids de la coque d'un cocon (g) et la richesse soyeuse. Les mesures concernant le poids des larves adultes ont été effectuées à partir d'une sélection aléatoire de dix larves du 4ème jour du Vème âge. Vers la fin de l'élevage, les cocons ont été récoltés le 8ème jour après la date de filage pour chaque élevage. Le poids des cocons et des coques ont été mesurés à partir de dix cocons mâles et dix cocons femelles choisis au hasard.

La moyenne des données concernant cinq récoltes a été prise en compte pour les diverses analyses. Tout d'abord, les évaluations de deux répétitions sur cinq récoltes ont été rassemblées séparément puis les moyennes calculées. L'analyse des groupes hiérarchiques employant la méthode de la liaison complète entre les groupes selon Sneath et Sokal (1973) a été réalisée avec le logiciel d'INDOSTAT Services, à Hyderabad en Inde. La méthode de la liaison complète a été utilisée car elle mène en général à des agrégats serrés, hypersphériques et discrets qui joignent difficilement les autres et à des valeurs de similarité générale relativement faibles. L'agrégation a été réalisée en se basant sur la distance Euclidienne et la distance mesurée par :

$$d_{ij} = \sum i(X_{ik} - X_{jk})^2$$

où d_{ij} est la distance entre les points i et j ; X_{ik} est la valeur des variables $k^{\text{ème}}$ pour l'entité $i^{\text{ème}}$. La liaison complète entre deux groupes a été utilisée comme la distance entre toutes les paires de cas, avec un membre d'un groupe ayant une similitude avec le membre le plus éloigné à l'intérieur du groupe. Les estimations des neuf variables ont été soumises aux transformations de matrice d'erreur avant l'analyse du groupage. Le dendrogramme a été réalisé sur la matrice réelle de la distance du carré Euclidien.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse de variance faite à partir de 56 lignées de polyvoltins pour chaque trait est hautement significative, ce qui indique une variation considérable parmi les lignées. Le dendrogramme dessiné à partir de l'agrégation hiérarchisée après liaison complète basée sur la distance Euclidienne (Fig. 1) révèle que les 56 lignées sont distribuées en deux classes majeures. Le dendrogramme obtenu a été divisé en six agrégats distincts (Tableau II), déterminé par le ratio de l'interclasse sur la variance totale. L'agrégat II possède le groupe de lignées le plus important (21), suivi par l'agrégat I (13) et l'agrégat III (12). L'agrégat V contient trois lignées tandis que les IV et VI sont caractérisés par une lignée seulement.

L'observation des lignées dans les différents groupes révèle des races régionales indigènes et géographiques différentes comme Sarupat (Assam), Tamil Nadu White (Tamil Nadu) et Guang Nuang Plain dans le groupe I, Moria (Assam) et Rong Daizo (Chine) dans le groupe II, NK₄ (Thaïlande) et Cambodge (Cambodge) dans le groupe III et Raj (Bangladesh) et Daizo (Chine) dans le groupe V qui sont réparties avec les lignées indigènes évoluées. La structure de la constellation du groupe prouve que la diversité géographique même importante n'est pas le facteur déterminant de la diversité génétique. Le résultat observé dans notre étude renforce les observations faites auparavant par Jolly et coll., (1989). Les génotypes, groupés dans différents agrégats, sont basés seulement sur la distance génétique, mises en avant par les valeurs D . La sélection des lignées pour l'hybridation doit être entièrement basée sur la diversité génétique puis sur la capacité combinatoire.

Il est intéressant de noter qu'une entité isolée comme *Pure Mysore* dans l'agrégat VI, est considéré comme une race chinoise introduite en Inde il y a 200 ans, tandis que *C. nichi*, dans l'agrégat IV est originaire d'une lignée bivoltine tempérée japonaise (Dutta, 1984). Après des élevages réalisés depuis plus de deux siècles sous un climat tropical, ces lignées se sont adaptées aux conditions et le voltinisme

a évolué en polyvoltinisme. Les cocons de *C. nichii* sont les plus petits et les rendements sont parmi les plus bas ; *Pure Mysore* est caractérisée par la durée larvaire la plus longue, ce qui révèle encore que les deux lignées ont été placées dans deux agrégats différents, séparées des autres à cause de leurs caractéristiques génétiques et pas seulement pour leurs origines géographiques. La grande diversité entre *Pure Mysore* et *C. nichii*, leur divergence génétique distincte avec le reste des lignées ont été remarquée auparavant (Chatterjee et coll., 1993).

Sur les 12 géotypes de l'agrégat III, 10 d'entre eux sont des formes différentes de *Nistari*. Les lignées, NK4 et Cambodge ont été procurées par le Japon mais sont respectivement originaires de Thaïlande (Kantaratanakul, 1987) et du Cambodge (Kobayashi, 1990). A par cela, Raj et Daizo sont groupées avec une dérivation (B) de race indigène dans le groupe V. Cela peut être dû à leur relation génétique proche avec les races indiennes qui pourrait avoir émergé des échanges libres et fréquents de matériels génétiques. Une telle relation a aussi été observée par Chatterjee et coll., 1993 a & b.

Il est intéressant de noter que dans l'agrégat II la plupart des géotypes ont été développés par hybridation ou / et mutation en impliquant un parent commun, '*Pure Mysore*'. Une situation presque similaire se retrouve dans les agrégats I et III où la majorité des lignées comprennent *Nistari* comme un des combinants. En Inde, il y a deux Instituts de Recherche en Sériciculture faisant des lignées de vers à soie polyvoltins : l'un est situé dans le Sud, au climat tropical sec (Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore) et l'autre dans l'Est, au climat tropical humide (CSRTI, Berhampore). *Pure Mysore* et *Nistari*, les plus vieilles races de vers à soie polyvoltins parmi les races indigènes sont toujours populaires chez les éleveurs en Inde du Sud et de l'Est. Ces races sont utilisées de façon extensive pour l'exploitation de leur adaptabilité dans les différents programmes d'élevages des Instituts de Recherche ; il en résulte des géotypes avec un arrière plan génétique presque similaire et ils font donc partie du même groupe. A part cela, la sélection directionnelle pour quelques caractéristiques particulières en préservant les priorités régionales peut aussi avoir joué un rôle important dans les différents programmes de breeding au cours des années, en développant des géotypes avec une base génétique quelque peu étroite. Jolly et coll. (1990) ont observé que les lignées provenant d'une même source se trouvent comprises dans le même agrégat montrant une affinité étroite entre les lignées soeurs avancées. Tandis qu'ils étudiaient la divergence génétique chez 18 souches polyvoltines, Govindan et coll. (1992) ont remarqué que les lignées provenant d'ancêtres communs se retrouvaient dans des agrégats différents et ceux avec un arrière plan génétique différent occupaient le même agrégat indiquant l'uniformité dans leur procédure de sélection. La faible productivité en termes de qualité et de quantité dans les lignées de vers à soie polyvoltins indiens peut être due au fait qu'ils possèdent une base génétique étroite et ne sont pas performants dans des conditions environnementales et géographiques différentes. Cela nécessite donc d'impliquer des stocks de parents plus importants et variés, avec une large variabilité de rendement et de ces attributs dans les programmes de breeding à venir par les Instituts de Recherche afin d'obtenir des lignées avec une base génétique large pour faire face aux conditions climatiques variées.

Les distances inter-agrégats sont plus grandes que les distances intra-agrégat : ceci révèle que les lignées étudiées sont génétiquement diverses (Tableau III). Le critère de Wilk (1 454,75) au degré de liberté 495 déterminé par le test χ^2 indique que toutes les valeurs D^2 calculées sont plus élevées que la valeur de la table et donc significatif. Les valeurs de la distance Euclidienne inter-agrégat maximales ont été notées entre les agrégats IV et VI (22,364), tandis que la divergence est minimale entre les agrégats III et V (9,943). La divergence intra-groupe va de 7,169 (groupe I) à 8,467 (groupe V). La distance inter-groupe est le critère majeur pour la sélection de géotypes (utilisant l'analyse de matrices des distances). Les géotypes appartenant à des groupes avec une distance inter-agrégat maximale sont génétiquement plus divergents et l'hybridation entre les géotypes d'agréats divergents est supposée produire une grande variabilité avec des ségrégants désirables (Jolly et coll., 1989 et Subba Rao et coll., 1989). Cependant, Arunachalam et Bandyopadhyay (1984) et Arunachalam et coll. (1984) recommandent un croisement entre deux parents dont la divergence génétique se situe dans la moyenne $\pm$ l'écart type a de plus grandes chances de manifester une vigueur

hybride, ceci étant corroboré par Razdan et coll. (1994a et b). Une attention particulière est nécessaire pour la sélection des parents à l'intérieur ou entre les groupes. Un examen minutieux de la matrice de distances Euclidienne chez 56 polyvoltins révèle que Pure Mysore (groupe VI) et WAI-1 (groupe I) sont les plus éloignés (724,22) alors que Kolar Gold et MU-1 du groupe II sont génétiquement les lignées les plus proches (5,51).

Les moyennes des groupes montrent une variation appréciable en ce qui concerne les différentes caractéristiques (Tableau IV). Les lignées du groupe II sont caractérisées par le poids le plus important chez les larves mûres, le rendement / 10 000 larves en poids, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse, ils sont prometteurs en tant que parents pour obtenir des hybrides et créer une variabilité subséquente concernant ces caractéristiques. Le groupe III est caractérisé par une fécondité et un rendement / 10 000 larves en poids faibles tandis que l'agrégat V est le plus faible en ce qui concerne le rendement / 10 000 larves en nombre. *C. nichi* du groupe IV est le plus court en ce qui concerne la durée larvaire et produit le nombre de cocon maximum tandis que le poids de la coque et la richesse soyeuse sont plus faibles. Pure Mysore de l'agrégat VI est caractérisé par une fécondité ainsi que des durées larvaires les plus importantes, et comparativement un rendement / 10 000 larves en nombre élevé mais le poids du cocon le plus faible.

Une étude comparative des moyennes de groupes révèle que le groupement des lignées dans l'agrégat III (qui inclut toutes formes de *Nistari*) est principalement basé sur une fécondité, un poids des larves mûres et un rendement / 10 000 larves en poids les plus faibles comparativement aux lignées de l'agrégat I. Mais, en général, il se produit une amélioration positive de la fécondité, du poids des larves mûres et du rendement / 10 000 larves en poids des génotypes améliorés (agrégat I) avec l'incorporation du sang de *Nistari* indiquant aussi l'emphasis donnée à ces caractéristiques dans le programme de breeding des Instituts de Recherche situés dans l'Est. De façon similaire, la supériorité des dérivés du groupe II sur Pure Mysore (groupe VI) en rapport avec le poids des larves mûres, le rendement / 10 000 larves en poids et les trois caractéristiques du cocon jette une lumière sur la direction de la sélection pour l'amélioration dans la région sud.

Le tableau IV montre que le trait le plus important causant la divergence génétique la plus importante est le poids de la larve mûre : elle est responsable, en grande partie, de la différenciation des lignées. Les traits importants suivants qui contribuent à la divergence sont la durée larvaire totale et le poids du cocon. Le poids de la coque, le rendement / 10 000 larves en nombre et en poids et la richesse soyeuse donnent une contribution minimale en ce qui concerne la divergence génétique parmi les lignées étudiées. La faible variabilité de ces caractéristiques dans cette vaste variété de lignées peut suggérer le haut degré de stabilité et d'hérédité de ces caractéristiques.

Finalement, l'analyse des moyennes des groupes suggère que les lignées développées en impliquant Pure Mysore comme un des parents (groupe II) possèdent une supériorité sur les lignées développées avec incorporation ou altération des gènes de *Nistari* (groupes I et III) particulièrement en ce qui concerne le poids des larves matures, le rendement / 10 000 larves en poids, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse en plus de la fécondité. L'impact de cette supériorité peut être apprécié par le fait que plus de 80 % de la soie polyvoltine produite dans le pays viennent des états du sud et, le reste, de l'est de l'Inde. Cependant, dans les deux cas, les activités de pré-breeding à long terme et les programmes de base plus importants sont envisagés.

DETECTION AND ESTIMATION OF COMPONENTS OF GENETIC VARIATION IN SOME BIVOLTINE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) POPULATIONS. II ADDITIVE AND DOMINANCE GENE EFFECTS

AFIFA S. KAMILI^{1*}, M. AMIN MASOODI² & G. H. ZARGAR³

1. Division of Sericulture, SK University of Agricultural Sciences and Technology, Post Box 272, GPO, Srinagar, Kashmir, 190 001, India.

2. Director Research, SKUAST, Shalimar, India.

3. Prof. and Head, Division of Plant Breeding and Genetics, SKUAST, Shalimar, India.

*A triple test cross mating design was used to study the magnitude of genetic variances, to estimate the level of additive and dominance components, dominance ratio and direction of dominance in bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.). Additive genetic variance played highly significant role in majority of the traits under study. Most of the traits exhibited higher magnitude of additive component ($\hat{D}$), partial dominance ratio and ambidirectional dominance. Thus, selection for such traits would prove advantageous in isolating the superior inbreds.*

Keywords: *Bombyx mori*, genetic variance, additive and dominance component, dominance ratio, dominance direction.

INTRODUCTION

Restructuring of genotypes to enhance the quality and quantity of production is the fundamental of any crop improvement programme. This primarily depends upon the sound knowledge and understanding of genetic variances and the nature and magnitude of gene effects present in a particular population. Despite the great importance of silkworm (*Bombyx mori* L.) as a commercial insect such genetic information is scanty in India (Ashoka and Govindan, 1990) and breeding has been confined mainly to conventional methods. As such silkworm breeding deserves a contemplative study of quantitative characters for evolving a type of animal architecture which can enhance its productivity.

Silkworm populations undergo random mating and there is sufficient scope for population improvement through well designed selection cycles and appropriate breeding methodologies after thorough understanding of nature and magnitude of gene action of various economic attributes. The design proposed by Kearsy and Jinks (1968) and Jinks and Perkins (1970) is the most efficient method available for precisely estimating the components of genetic variances of quantitatively inherited traits in randomly breeding populations. No work seems to have been done through this mating design in *B. mori*. Keeping in view the limited work done on the genetic studies of economic attributes of bivoltine silkworm, *B. mori* and the efficiency of triple test cross design of Kearsy and Jinks (1968) and Jinks and Perkins (1970) in detecting and estimating the components of genetic variances, the present study was undertaken to identify the gene effects and estimate the relative proportion of

* Communication to be made to Afifa S. Kamili.

additive and dominance variances, resulting from hybridization of 2 divergent bivoltine silkworm lines, SKAU - R - 1 and SKAU - R - 6 and utilise them for further improvement of elite populations.

MATERIALS AND METHODS

Three egg - layings from each of the two bivoltine silkworm lines, SKAU - R - 1 and SKAU - R - 6 were reared by adopting the rearing practices advocated by Krishnaswami (1978). A large number of female moths of SKAU - R - 1 were mated with the male moths of SKAU - R - 6 and vice versa to raise F1 crosses. The F1 eggs were reared in bulk to produce F2 eggs. These along with three tester lines viz SKAU - R - 1 (L₁), SKAU - R - 6 (L₂), and their F1, SKAU - R - 1 × SKAU - R - 6 (L₃), were reared simultaneously and separately.

In view of polygamy in *B. mori*, 40 males were randomly selected from F2 base population and each mated to three testers (L₁, L₂, L₃) used as females to generate 120 families as per the mating design proposed by Kearsy and Jinks (1968) and Jinks and Perkins (1970). These were evaluated in a Completely Randomised Block Design with three replications under two different environments viz sub - tropical environment of Jammu (E1) and temperate environment of Kashmir (E2).

The data recorded for weight of 10 mature larvae, weight of mature silk glands, total larval span, cocoon yield per 10 000 larvae brushed, cocoon filament length and reelability was subjected to triple test cross analysis of sums ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$) to detect the additive component of variances over all the n sets of progeny families (i = 1, 2, ..., n) and differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$) to detect the variances due to dominance deviation over all the n sets (n = 40 in the present case) of progeny families. The following ANOVA was computed for this purpose:

i. ANOVA for estimation of additive genetic variance

Source of variation	de gree of freedom	mean of squares	ems
Sums ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$)	n - 1	ms ₃	$\sigma^2 + 3\sigma_{sr}^2 + 3\sigma_s^2$
Sums x replicates	(n - 1) (r - 1)	ms ₂	$\sigma^2 + 3\sigma_{sr}^2$
Within families	3nr (k - 1)	ms ₁	σ^2

where,

n =	number of families (40 in the present case)
r =	number of replications
k =	number of insects per family (200 in the present case)
σ_s^2 =	variance due to sums
σ_{sr}^2 =	variance due to sums x replicates
σ^2 =	within family variance

Test of Significance:

The mean square due to sums x replicates ms₂ was tested against within family mean square ms₁ and if significant, it was used to test the significance of mean square due to sums ms₃. Otherwise, mean square due to sums was tested against within family variance.

ii. ANOVA for estimation of dominance variance

Source of variation	degree of freedom	mean of squares	ems
Differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$)	$n - 1$	ms_3	$\sigma^2 + 2\sigma_{dr}^2 + 2\sigma_d^2$
Differences x replicates	$(n-1)(r-1)$	ms_2	$\sigma^2 + 2\sigma_{dr}^2$
within families	$2nr(k-1)$	ms_1	σ^2

where,

n = number of families (40 in the present case)

r = number of replications

k = number of insects per family (200 in the present case)

σ_d^2 = variance due to differences

σ_{dr}^2 = variance due to differences x replicates

σ^2 = within family variance

Test of significance:

The mean square due to differences x replicates ms_2 was tested against within family mean square ms_1 and if significant, was used to test the significance of mean square due to differences ms_3 . Otherwise, mean square due to differences was tested against within family variance.

The estimates of additive component of genetic variation ($\hat{D}$) and dominance component of genetic variation ($\hat{H}$) were estimated from the estimates of σ_s^2 and σ_d^2 as under:

i) Estimation of 'D' component:

$$\sigma_s^2 = \frac{ms_3 - ms_1}{3 \times r}$$

$$\text{As } \sigma_s^2 = 1/8 D$$

$$\hat{D} = 8\sigma_s^2$$

ii) Estimation of 'H' component:

$$\sigma_d^2 = \frac{ms_3 - ms_1}{2 \times r}$$

$$\text{As } \sigma_d^2 = 1/8 H$$

$$\hat{H} = 8\sigma_d^2$$

iii) Degree of dominance

Degree of dominance was worked out by using the estimates of $\hat{D}$ and $\hat{H}$ components by the formula suggested by Kempthorne and Curnow (1961):

$$\text{Degree of dominance} = (\hat{H} / \hat{D})^{1/2}$$

Where,

H = estimate of dominance component of variance

D = estimate of additive component of variance

iv) Direction of dominance

The direction of dominance ($\hat{F}$) was calculated as the covariance between sums ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$) and their corresponding difference ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$) for all the values of i ($i = 1, 2, \dots, n$). The covariance has the following expectation:

$$\text{Cov. sums / differences} = -\frac{1}{4} F$$

$\hat{F}$ is therefore the sum of the products of $\hat{D}$ and $\hat{H}$. The positive and negative $\hat{F}$ would indicate the direction of dominance towards increasing or decreasing values of a trait, respectively, the magnitude and sign provide the information about both the extent and the direction of dominance. Significance of the covariance was tested indirectly through its correlation coefficient for $(n - 3)$ degrees of freedom.

$$\hat{r} (\text{sums/differences}) = \frac{\text{Cov. sums / differences}}{\sqrt{\text{Var. sums} \times \text{Var. differences}}}$$

Where,

r = Correlation coefficient

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained for various metric traits are discussed separately below:

Weight of 10 full grown larvae:

The variances due to sums and differences and mean squares due to differences $\times$ replicates were highly significant in both the environments (Table I). The variances due to sums was 6 and 12 times more in magnitude than that due to differences in E1 and E2, respectively. The additive genetic component ($\hat{D}$) was much higher in magnitude as compared to its respective dominance component ($\hat{H}$) in both the environments. The trait seemed to be controlled mostly by additive gene effects in both the environments. Similar findings of gene action for this trait have been reported by Ashoka and Govindan (1990) and Sen *et al* (1992). The estimates of degree of dominance (Table II) revealed that the trait was under partial dominance with a value of 0.484 (E1) and 0.358 (E2). The direction of dominance ($\hat{F}$) was non - significant and thus ambidirectional (Table II), indicating that both increasing and decreasing type genes were playing their role in this character in both the environments.

Table I. Analysis of variance for sums and differences of weight of 10 full grown larvae and weight of mature silk glands

Tableau I. Analyse de la variance des sommes et des différences de poids de 10 larves et des glandes séricigènes matures.

Source of variation	df	Mean squares			
		Weight of 10 full grown larvae		Weight of mature silk glands	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
<i>Source de variation</i>	<i>dl</i>	<i>Moyenne des carrés</i>			
		<i>Poids de 10 larves matures</i>		<i>Poids des glandes séricigènes matures</i>	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
Sums / <i>Sommes</i> ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$)	39	101.98**	194.88**	432616.29**	425008.37**
Sums x replicates <i>Sommes x répétitions</i>	78	1.53	0.25	1536.89	56197.42
Within family <i>A l'intérieur d'une famille</i>	1440	1.84	2.07	2793.87	112646.75
Differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$)	39	15.53**	16.58**	44156.26**	130054.11**
Differences x replicates <i>Différences x répétitions</i>	78	0.68**	0.17**	122.85**	83830.31
Within families <i>A l'intérieur des familles</i>	960	0.03	0.04	24.02	98945.73

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0,05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0,01$* .
 df = degree of freedom / *dl = degrés de liberté*.

Weight of mature silk glands:

The estimates of additive genetic variance and dominance variance (Table I) indicated highly significant values in both the environments. The mean squares due to differences x replicates were significant only in E1. The variance due to sums was nearly 10 and 13 times higher than the variance due to difference in E1 and E2, respectively. The dominance component ($\hat{H}$) was slightly higher in magnitude than its corresponding additive component ($\hat{D}$) in E1, whereas the situation was reverse

in E2. Tayade (1987) also reported greater importance of non-additive gene action for this trait. The degree of dominance was more than unity in E1 (1.27) and nearly unity in E2 (0.946) which indicated over dominance in E1 and nearly complete dominance in E2 (Table II). The effect of dominance ($\hat{F}$) was positive and significant in both the environments which indicated that dominance was directional with increasing type genes contributing to the dominance component.

Table II. Estimates of additive and dominance components, degree of dominance and direction of dominance for weight of 10 full grown larvae and weight of mature silk glands.

Tableau II. Estimations des composants additifs et de dominance, du degré de dominance et de la direction de dominance pour le poids de 10 larves et des glandes séricigènes matures.

Estimates of genetic parameters	Mean squares			
	Weight of 10 full grown larvae		Weight of mature silk glands	
	E1	E2	E1	E2
<i>Estimations des paramètres génétiques</i>	<i>Carrés moyens</i>			
	<i>Poids de 10 larves matures</i>		<i>Poids des glandes séricigènes matures</i>	
	E1	E2	E1	E2
Additive component ($\hat{D}$) <i>Composant additif ($\hat{D}$)</i>	188.14	171.38	36286.59	277654.77
Dominance component ($\hat{H}$) <i>Composant de dominance ($\hat{H}$)</i>	20.67	22.04	58842.97	248867.04
Degree of dominance ($\hat{H} / \hat{D}$) ^{1/2} <i>Degré de dominance</i>	0.484	0.358	1.27	0.946
Direction of dominance ($\hat{F}$) <i>Direction de dominance ($\hat{F}$)</i>	- 423.72	- 210.03	1099633.25	1023542.00
Correlation sums / différences ($\hat{F}$) <i>Corrélation des sommes / différences ($\hat{F}$)</i>	0.240	0.101	- 0.400**	- 0.330*

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0.05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0.01$* .

Table III. Analysis of variance for sums and differences of total larval span and cocoon yield per 10 000 larvae brushed.

Tableau III. Analyse de variance des sommes et des différences pour la durée de la période larvaire totale et du rendement en cocons pour 10 000 larves levées.

Source of variation	df	Mean squares			
		Total larval span		Cocoon yield per 10 000 larvae brushed	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
<i>Source de variation</i>	<i>dl</i>	<i>Moyenne des carrés</i>			
		<i>Durée larvaire totale</i>		<i>Rendement en cocons pour 10 000 larves levées</i>	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
Sums / <i>Sommes</i> ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$)	39	2.23**	2.97**	49.24**	30.03**
Sums × replicates <i>Sommes × répétitions</i>	78	0.03	0.86	2.32	2.18
Within families <i>A l'intérieur des familles</i>	1440	0.36	1.70	4.09	3.12
Differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$)	39	0.19**	1.99*	43.06**	32.16**
Differences × replicates <i>Différences × répétitions</i>	78	0.02	0.12	0.09	0.17
Within families <i>A l'intérieur des familles</i>	960	0.02	1.26	0.10	0.18

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0.05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0.01$* .
df = degree of freedom / *dl = degrés de liberté*

Total larval span:

Analysis of sums and differences (Table III) revealed that additive and dominance genetic variances were highly significant in both the environments. The variance due to sums was 11 and 2 times more in magnitude than that of differences in E₁ and E₂, respectively. The additive genetic component ($\hat{D}$) was 5 and 6 times more in magnitude than the dominance component ($\hat{H}$) in E₁ and E₂, respectively (Table IV). Tayade (1989) also reported additive gene action for this trait. Degree of dominance was partial in both the environments with a value of 0.371 (E₁) and 0.393 (E₂). The

direction of dominance ($\hat{F}$) was positive. The effect of dominance was non - significant and ambidirectional which indicated equal proportion of increasing and decreasing type genes in this character in both the environments. Earlier, Jang and Sohan (1985) also reported positive direction of $\hat{F}$ for this trait.

Table IV. Estimates of additive and dominance components, degree of dominance and direction of dominance for total larval span and cocoon yield per 10 000 larvae brushed.

Tableau IV. Estimations des composants additifs et de dominance, du degré et de la direction de dominance pour la durée larvaire totale et le rendement en cocons sur 10 000 larves levées.

Estimates of genetic parameters	Total larval span		Cocoon yield per 10 000 larvae brushed	
	E1	E2	E1	E2
<i>Estimations des paramètres génétiques</i>	<i>Durée larvaire totale</i>		<i>Rendement en cocons pour 10 000 larves levées</i>	
	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E1</i>	<i>E2</i>
Additive component ($\hat{D}$) <i>Composant additif</i>	1.66	1.12	40.13	23.92
Dominance component ($\hat{D}$) <i>Composant de dominance</i>	0.229	0.173	57.28	42.63
Degree of dominance ($(\hat{H} / \hat{D})1/2$) <i>Degré de dominance</i>	0.371	0.393	1.19	1.33
Direction of dominance ($\hat{F}$) <i>Direction de dominance</i>	3.76	3.73	298.86	220.44
Correlation sums/differences ($\hat{r}$) <i>Corrélation sommes / différences</i>	-0.080	-0.060	-0.781**	-0.431**

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0.05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0.01$* .

Table V. Analysis of variance for sums and differences of cocoon filament length and reelability.

Tableau V. Analyse de variance des sommes et des différences pour la longueur de la bave du cocon et sa dévidabilité.

Source of variation	df	Mean squares			
		Cocoon filament length		Reelability	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
Source de variation	df	Moyenne des carrés			
		Longueur de la bave du cocon		Dévidabilité	
		E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
Sums / Sommes ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$)	39	242456.71**	198133.18**	105.37**	207.35**
Sums x replicates Sommes x répétitions	78	863.10	77762.96**	2.72	4.58
Within families A l'intérieur des familles	1440	11425.51	31693.46	12.02	10.73
Differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$)	39	10984.00**	155573.23*	9.73**	1.99
Differences x replicates Différences x répétitions	78	120.94*	152594.87*	0.28**	2.10
Within families A l'intérieur des familles	960	76.81	100856.18	0.14	2.60

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0,05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0,01$* .
 df = degree of freedom / *dl = degré de liberté*.

Cocoon yield per 10 000 larvae brushed:

The variance due to sums and differences (Table III) were highly significant in both the environments. The dominance component ($\hat{H}$) was nearly one and a half times higher in magnitude as compared to its respective additive component ($\hat{D}$) in both the environments (Table IV). Thus, the trial was relatively controlled more by dominance gene effects in both the environments. Tayade (1989) and Narasimharaju *et al.* (1992) also found the role of non-additive gene action for this character. The degree of dominance was more than unity in both the environments (Table IV). The covariance between sums and differences ($\hat{F}$) was positive and significant (Table IV) that indicated directional dominance. Thus, increasing alleles played more important role in the dominance component than decreasing alleles.

Table VI. Estimates of additive and dominance components, degree of dominance and direction of dominance for cocoon filament length and reelability.*Tableau VI. Estimations des composants additifs et de dominance, du degré et de la direction de dominance de la longueur de la bave du cocon et de sa dévidabilité.*

Estimates of genetic parameters	Cocoon filament length		Reelability	
	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
<i>Estimations des paramètres génétiques</i>	<i>Longueur de la bave du cocon</i>		<i>Dévidabilité</i>	
	E ₁	E ₂	E ₁	E ₂
Additive component ($\hat{D}$) <i>Composant additif</i>	205361.04	147946.42	83.29	174.77
Dominance component ($\hat{H}$) <i>Composant de dominance</i>	14542.93	6289.40	12.80	9.85
Degree of dominance ($\hat{H}/\hat{D}$) ^{1/2} <i>Degré de dominance</i>	0.266	0.206	0.392	0.237
Direction of dominance ($\hat{F}$) <i>Direction de dominance</i>	-160143.55	-106697.80	-238.99	-208.99
Correlation sums/differences ($\hat{r}$) <i>Corrélation sommes/différences</i>	0.103	0.025	0.164	0.102

* Significant at $p = 0.05$ / *Significatif à $p = 0.05$* . ** Significant at $p = 0.01$ / *Significatif à $p = 0.01$* .**Cocoon filament length:**

Analysis of sums and differences revealed highly significant values of additive and dominance genetic variance in both the environments (Table V). The mean squares due to interaction of sums with replicates were significant in E₂ but the mean squares due to interaction of differences with replicates were significant in both the environments. The additive component ($\hat{D}$) was greater in magnitude than dominance component ($\hat{H}$) in both the environments (Table VI). The trait seemed to be under the influence of additive gene effects in both the environments. Evidence for the importance of additive gene effects for this character has also been reported by Gamo and Hirabayashi (1983) and Sen *et al* (1992). Average degree of dominance was nearly incomplete in both the environments (Table VI). ($\hat{r}$) was negative and non-significant. Thus, dominance was ambidirectional and both increasing and decreasing alleles were equally playing their role in the dominance component of this trait in both the environments.

Reelability:

Additive genetic variance significantly contributed in the inheritance of this trait in both the environments. However, dominance component and interaction of differences with replicates exhibited significant role only in E1 (Table V). The estimates of additive component ($\hat{D}$) were higher in magnitude than the dominance component ($\hat{H}$) in E2, but the situation was reverse in E1 (Table VI). The estimates of mean degree of dominance (Table VI) indicated partial (0.392) to incomplete (0.237) dominance in this trait in E1 and E2, respectively. Jeong *et al* (1986) also reported partial dominance for this trait. The direction of dominance ($\hat{F}$) was negative and non - significant. Thus, dominance was ambidirectional in both the environments due to nearly cancelling effect of increasing and decreasing type alleles.

Most of the traits under study exhibited preponderance of additive genetic variance and partial dominance ratio which signified the greater importance of breeding value variance in the inheritance of these traits. This also receives support from the findings of Kamili *et al* (1998) who have observed higher magnitude of additive x additive epistatic gene effects in the inheritance of these traits. Thus, selection for these traits would prove highly advantageous in isolating the inbreds by pedigree method involving selection of transgressive types by accumulation of favourable genes. Development of hybrid cultures for commercial exploitation utilising heterotic effects would be advisable for the traits that revealed higher influence of dominance gene effects. For utilising both the types of variances, reciprocal selection would prove helpful in developing elite populations after selecting the high yielding lines in advanced generations. Intermating followed by selection can convert coupling phase linkages into repulsion phase linkages which would likely increase the frequency of desirable recombinants and would therefore, release greater amount of hidden variability, particularly of additive type.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the authorities of SK University of Agricultural Sciences & Technology for providing facilities. Thanks are also due to the staff of Computer Science Dept, IASRI, New Delhi for analysing the data and to Prof. G. S. Chahal, Breeder, Division of Genetics and Plant Breeding, P A U, Ludhiana for his guidance during this study.

REFERENCES

- ASHOKA J. & GOVINDAN R. (1990) Genetic estimates of quantitative traits in bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L., Mysore. J. Agric. Sci., 24: 371 - 74.
- GAMO, TAND HIRABAYASHI T. (1993) Genetic analysis of growth rate, pupation rate and some quantitative characters by diallel cross in silkworm, *Bombyx mori* L. Jpn. J. Breeding, 33: 191 - 94.
- JANG, C. S. & SOHAN H. R. (1985) The analysis of genetic variance and combining ability in some quantitative characters of silkworm, *Bombyx mori* L. Korean J. Seric. Sci., 27 (2): 7 - 19.
- JEONG W. B., CHANG K. Y., HAN K. S., KIM J. H., RYU K. D., CHUNG H. Y. & RYU S. C. (1986). Estimation of heritability and genotypic correlation through diallel crosses of the silkworm, *Bombyx mori* L. Korean J. Seric. Sci., 28 (2): 7 - 19.
- JINKS J. L. & PERKINS J. M. (1970) A general method for the detection of additive, dominance and epistatic components of variation III F2 and backcross population. Heredity, 25: 419 - 29.
- KAMILI, AFIFA SHAHIN, MASOODI, M. AMIN & ZARGAR G. H. (1988) Genetic analysis of quantitative traits in bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.). Detection of components of inter - allelic gene interaction. Applied Biol. Res., 1: 29 - 34.
- KEARSY M. J. & JINKS J. L. (1968) A general method of detecting additive dominance and epistatic variation for metrical traits. I Theory. Heredity, 23: 403 - 09.

- KEMPTHORNE O. and CURNOW R. N. (1961) The partial diallel cross. *Biometrics*, 17: 229 - 50.
- KRISHNASWAMY S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bulletin No 2, CSR & TI, Mysore.
- NARASIMAHARAJU R., GOVINDAN R., ASHOKA J., & RAYAR S. G. (1992) Comparative performance of pure Mysore and C. Nichi based single cross hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L. *Karnataka J. Agric. Sci.* 5 (1) 31 - 37.
- SEN S. K., ROA P. R. T., GOSH B. & DAS N. K. (1992) Genetic variability of some quantitative characters in *Bombyx mori* L. *Nat. Sem. Mulb. Seric. Res. Dec.* 10 - 11, CSR & TI, Mysore.
- TAYADE D. S. (1987) Heterosis effect on economic traits of new hybrids of silkworm, *Bombyx mori* L. under Marathawada conditions. XVIII Int. Seric. Cong. *Sericologia*, 27 (2): 310 - 07.
- TAYADE D. S. (1989) Genetic architecture of economic traits in some strains of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. I Combining ability analysis. *Sericologia*, 29 (1): 43 - 60.

DETECTION ET ESTIMATION DES COMPOSANTS DES VARIATIONS GENETIQUES CHEZ QUELQUES POPULATIONS DE VERS A SOIE BIVOLTINS (*BOMBYX MORI* L.). II EFFETS DES GENES ADDITIFS ET DOMINANTS

AFIFA S. KAMILI¹*, M. AMIN MASOODI² & G. H. ZARGAR³

1. Division of Sericulture, SK University of Agricultural Sciences and Technology, Post Box 272, GPO, Srinagar, Kashmir, 190 001 Inde.

2. Director Research, SKUAST, Shalimar, Inde.

3. Prof. and Head, Division of Plant Breeding and Genetics, SKUAST, Shalimar, Inde.

*Un plan de croisements triples a été utilisé afin d'étudier l'ampleur des variances génétiques et d'évaluer le niveau des constituants additifs et dominants, le ratio de dominance et la direction de dominance chez des vers à soie bivoltins (*Bombyx mori* L.). La variance génétique additive joue un rôle hautement significatif pour la majorité des caractéristiques étudiées. La plupart des caractères expriment une plus grande ampleur des composants additifs (D), un rapport de dominance partielle et une dominance ambidirectionnelle. Il serait donc plus profitable de sélectionner les caractères concernés pour obtenir des lignées inbred supérieures.*

INTRODUCTION

La restructuration des génotypes pour l'amélioration qualitative et quantitative de la production est la base fondamentale de tout programme d'amélioration des récoltes. Ceci dépend principalement de la bonne connaissance et de la compréhension des variances génétiques et de la nature et de l'ampleur des effets des gènes présents chez une population particulière. Malgré l'importance du fait que le ver à soie *Bombyx mori* L. soit un insecte commercial, une telle information génétique est rare en Inde (Ashoka et Govindan, 1990) et le breeding a été principalement confiné aux méthodes conventionnelles. Ainsi, le breeding du ver à soie mérite une étude extensive des caractères quantitatifs, afin d'élaborer un type d'architecture de l'animal qui pourrait améliorer sa productivité. Les populations de vers à soie s'accouplent de manière aléatoire et il existe suffisamment de champ d'action pour l'amélioration de la population grâce à des cycles de sélection bien conçus et à des méthodologies de breeding appropriées, après une compréhension totale de la nature et de l'ampleur de l'action des gènes concernant des caractères économiques variés. Le procédé proposé par Kearsy & Jinks (1968) et Jinks & Perkins (1970) est la méthode la plus efficace disponible pour l'évaluation précise des composants des variances génétiques des caractéristiques quantitatives héritées chez les populations dont le breeding est aléatoire. Aucune étude n'a été faite concernant ce type d'accouplements pour *B. mori*. En gardant à l'esprit le travail limité qui a été effectué sur les études génétiques des attributs économiques du ver à soie bivoltin *B. mori*, et sur l'efficacité du procédé de croisement triple de Kearsy & Jinks (1968) et de Jinks & Perkins (1970), pour la détection et l'évaluation des constituants des variances génétiques, l'étude actuelle a été entreprise afin d'identifier les effets des gènes et d'évaluer la proportion relative des variances additives et dominantes, résultant

* Correspondance à adresser à Afifa S. Kamili.

de l'hybridisation de 2 lignées divergentes de vers à soie bivoltins, SKAU - R - 1 et SKAU - R - 6 et de les utiliser pour l'amélioration future de populations élites.

MATERIELS ET METHODES

Trois pontes issues de chacune des deux lignées de vers à soie bivoltins, SKAU-R-1 et SKAU-R-6 ont été élevées en adoptant les pratiques d'élevage recommandées par Krishnaswami (1978). Un nombre important de papillons femelles de la lignée SKAU-R-1 a été accouplé avec les papillons mâles de la lignée SKAU-R-6 et vice versa, afin d'élever des croisements F1. Les oeufs F1 ont été élevés en grande quantité pour la production d'oeufs F2. Ceux-ci, en parallèle avec les trois lignées témoins, à savoir SKAU R - 1 (L_1), SKAU - R - 6 (L_2) et leur F1, SKAU-R-1 $\times$ SKAU-R-6 (L_3), ont été élevés simultanément et séparément.

Lorsque l'on considère *B. mori* du point de vue de la polygamie, 40 mâles ont été sélectionnés de manière aléatoire à partir de la population de base F2, et chacun fut accouplé à trois témoins femelles (L_1 , L_2 , L_3), afin de générer 120 familles selon le procédé d'accouplement proposé par Kearsy et Jinks (1968) et de Jinks et Perkins (1970). Ceux-ci ont été évalués selon la méthode en blocs totalement aléatoire, avec trois répétitions sous deux environnements différents, à savoir l'environnement sub-tropical de Jammu (E1) et l'environnement tempéré du Kashmir (E2).

Les données enregistrées concernant le poids de 10 larves matures, le poids des glandes séricigènes matures, la durée totale de la période larvaire, le rendement en cocons pour 10 000 larves levées, la longueur de la bave et la dévidabilité, ont été soumises à l'analyse par croisements triples des sommes ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$), afin de détecter les composants additifs des variances pour tous les lots n des familles des descendants ($i = 1, 2, \dots, n$) et des différences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$) afin de détecter les variances dues à l'écart de dominance pour tous les lots n ($n = 40$ dans l'expérience actuelle) des familles des descendants. L'analyse de variance (ANOVA) suivante a été réalisée dans ce but :

i. ANOVA pour l'estimation de la variance génétique additive.

Source de variation	degré de liberté	moyenne des carrés	ems
Sommes ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$)	$n - 1$	ms_3	$\sigma^2 + 3\sigma_{sr}^2 + 3\sigma_s^2$
Sommes $\times$ répétitions	$(n - 1)(r - 1)$	ms_2	$\sigma^2 + 3\sigma_{sr}^2$
A l'intérieur des familles	$3nr(k - 1)$	ms_1	σ^2

où,

n = nombre de familles (40 dans le cas présent)

r = nombre de répétitions

k = nombre d'insectes par famille (200 dans le cas présent)

σ_s^2 = variance due aux sommes

σ_{sr}^2 = variance due aux sommes $\times$ répétitions

σ^2 = Variance à l'intérieur de la famille

Test de signification :

Le carré moyen issu des sommes $\times$ les répétitions (ms_2) a été comparé au carré moyen à l'intérieur d'une famille (ms_1) et s'il est significatif, il est utilisé pour tester la signification des carrés moyens issus des sommes (ms_3). Dans le cas contraire, le carré moyen issu des sommes fut comparé à la variance intrafamiliale.

ii. ANOVA pour l'estimation de la variance de dominance

Source de variation	degré de liberté	moenne des carrés	ems
Differences ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$)	$n - 1$	ms_3	$\sigma^2 + 2\sigma^2_{dr} + 2\sigma^2_d$
Differences $\times$ répétitions	$(n-1)(r-1)$	ms_2	$\sigma^2 + 2\sigma^2_{dr}$
à l'intérieur des familles	$2nr(k-1)$	ms_1	σ^2

où

n = nombre de familles (40 dans le cas présent)

r = nombre de répétitions

k = nombre d'insectes par famille (200 dans le cas présent)

σ^2_d = variance due aux différences

σ^2_{dr} = variance due aux différences $\times$ répétitions

σ^2 = Variance à l'intérieur de la famille

Test de signification :

Le carré moyen issu des différences $\times$ les répétitions (ms_2) a été comparé au carré moyen d'une même famille (ms_1) et s'il est significatif, il est utilisé pour évaluer la signification du carré moyen dû aux différences (ms_3). Dans le cas contraire, le carré moyen issu de la différence a été comparé à la variance intra familles.

Les estimations des composants additifs de la variation génétique ($\hat{D}$) et des composants de dominance de la variation génétique ($\hat{H}$) ont été réalisées d'après les σ^2_s et σ^2_d , calculés comme suit :

i) Estimation du composant 'D' :

$$\sigma^2_s = \frac{ms_3 - ms_1}{3 \times r}$$

Avec $\sigma^2_s = 1/8 D$

$$\hat{D} = 8 \sigma^2_s$$

ii) Estimation du composant 'H' :

$$\sigma^2_d = \frac{ms_3 - ms_1}{2 \times r}$$

Avec $\sigma^2_d = 1/8 H$

$$\hat{H} = 8 \sigma^2_d$$

iii) Degré de dominance :

Le degré de dominance a été évalué en utilisant les estimations des composants $\hat{D}$ et $\hat{H}$, grâce à la formule suggérée par Kempthorne et Curnow (1961) :

$$\text{Degré de dominance} = (\hat{H} / \hat{D})^{1/2}$$

où,

H = estimation du composant de dominance de la variance

D = estimation des composants additifs de la variance

iv) Direction de dominance

La direction de dominance ($\hat{F}$) a été calculée comme la covariance entre les sommes ($\bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$) ainsi que leur différence correspondante ($\bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$) pour toutes les valeurs de i ($i = 1, 2, \dots, n$). La covariance est donc :

$$\text{Cov. sommes / différences} = -1/4 F$$

Ainsi, $\hat{F}$ est la somme de tous les produits de $\hat{D}$ et de $\hat{H}$. $\hat{F}$ positif indiquerait la direction de dominance vers les valeurs croissantes et $\hat{F}$ négatif vers des valeurs décroissantes d'un caractère, l'amplitude et le signe fournissent l'information concernant à la fois l'importance et la direction de dominance. La signification de la covariance a été testée indirectement par son coefficient de corrélation pour $(n-3)$ degrés de liberté.

$$\hat{r} \text{ (sommes / différences)} = \frac{\text{Sommes Cov. / différences}}{\sqrt{\text{Sommes Var.} \times \text{Différence Var.}}}$$

Où r = coefficient de corrélation

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus pour les différents caractères quantitatifs font l'objet d'une discussion individuelle ci - dessous :

Poids de 10 larves adultes :

Les variances dues aux sommes et aux différences et les carrés moyens dus aux différences x répétitions sont hautement significatifs pour les deux environnements (Tableau I). Les variances dues aux sommes sont 6 et 12 fois plus importantes en amplitude que celles dues aux différences en E1 et E2, respectivement. Le composant génétique additif ($\hat{D}$) est plus élevé en amplitude, lorsqu'on le compare à son composant de dominance respectif ($\hat{H}$) pour les deux environnements. Le caractère semble être contrôlé principalement par les effets des gènes additifs pour les deux environnements. Des résultats similaires concernant l'action des gènes pour cette caractéristique ont été rapportés par Ashoka et Govindan (1990) et Sen et coll. (1992). Les estimations du degré de dominance (Tableau II) révèlent que ce caractère est sous dominance partielle avec une valeur de 0,484 (F1) et de 0,358 (E2). La direction de dominance ($\hat{F}$) n'est pas significative et donc, ambidirectionnelle (Tableau II), ce qui indique que les gènes de type à la fois croissant et décroissant jouent un rôle pour ce caractère dans les deux environnements.

Poids des glandes séricigènes matures :

Les estimations de la variance génétique additive et de la variance de dominance (Tableau I) indiquent des valeurs hautement significatives dans les deux environnements. Les carrés moyens dus aux différences x les répétitions sont seulement significatifs en E1. La variance due aux sommes est presque 10 et 13 fois plus importante que la variance due à la différence en E1 et E2 respectivement. Le composant de dominance ($\hat{H}$) est légèrement plus élevé en amplitude que son composant additif respectif ($\hat{D}$) en E1, alors que la situation est inverse en E2. Tayade (1987) rapporta une plus grande

importance de l'action de gènes non - additifs pour cette caractéristique. Le degré de dominance est supérieur à l'unité en E1 (1,27) et voisin de l'unité en E2 (0,946), ce qui indique une surdominance en E1 et une dominance quasi - complète en E2 (Tableau II). L'effet de dominance ($\hat{F}$) est positif et significatif pour les deux environnements, ce qui indique que la dominance est directionnelle avec des gènes de type croissant qui contribuent au composant de dominance.

Durée larvaire totale :

L'analyse des sommes et des différences (Tableau III) révèle que les variances génétiques additive et de dominance sont hautement significatives pour les deux environnements. La variance due aux sommes est 11 et 2 fois supérieure en amplitude à celle due aux différences en E1 et E2, respectivement. Le composant génétique additif ($\hat{D}$) est 5 et 6 fois plus important en amplitude que le composant de dominance ($\hat{H}$) en E1 et E2, respectivement (Tableau IV). Tayade (1989) rapporta également l'action de gènes additifs pour ce caractère. Le degré de dominance est partiel pour les deux environnements avec une valeur de 0,371 (E1) et 0,393 (E2). La direction de dominance ($\hat{F}$) est positive. L'effet de dominance n'est pas significatif et est ambidirectionnel, ce qui indique des proportions égales de gènes de type croissant et décroissant pour cette caractéristique dans les deux environnements. Jang et Sohan (1985) rapportèrent également une direction positive de $\hat{F}$ pour ce caractère.

Le rendement en cocons par 10 000 larves levées :

La variance due aux sommes et différences (Tableau III) est hautement significative pour les deux environnements. Le composant de dominance ($\hat{H}$) est pratiquement une fois et demi plus important en amplitude lorsqu'on le compare à son composant additif respectif ($\hat{D}$) pour les deux environnements (Tableau IV). Ainsi, la caractéristique en question est davantage contrôlée par les effets des gènes de dominance pour les deux environnements. Tayade (1989) et Narasimharaju et coll. (1992) avaient également remarqué le rôle de l'action du gène non - additif pour cette caractéristique. Le degré de dominance est supérieur à l'unité pour les deux environnements (Tableau IV). La covariance entre les sommes et les différences ($\hat{F}$) est positive et significative (Tableau IV), ce qui indique une dominance directionnelle. Ainsi, les allèles croissants jouent un rôle plus important dans les composants de dominance que les allèles décroissants.

La longueur de la bave :

L'analyse des sommes et des différences révèlent des valeurs hautement significatives en ce qui concerne la variance génétique additive et dominante pour les deux environnements (Tableau V). Les carrés moyens dus à l'interaction des sommes et des répétitions sont significatifs en E2, mais les carrés moyens dus à l'interaction des différences et des répétitions sont significatifs pour les deux environnements. Le composant additif ($\hat{D}$) est plus important en amplitude que le composant de dominance ($\hat{H}$) pour les deux environnements (Tableau VI). Le caractère semble être sous l'influence des effets de gènes additifs pour les deux environnements. La confirmation de l'importance des effets de gènes additifs pour ce caractère est apportée par Gamo et Hirabayashi (1983) et par Sen et coll. (1992). Le degré moyen de dominance est presque incomplet pour les deux environnements (Tableau VI). ($\hat{F}$) est négatif et non - significatif. Ainsi, la dominance est ambidirectionnelle et les allèles croissants et décroissants jouent un rôle égal dans les composants de dominance de cette caractéristique pour les deux environnements.

Dévidabilité :

La variance génétique additive contribue de façon significative à la transmission de ce caractère dans les deux environnements. Cependant, le composant de dominance et l'interaction des différences

avec les répétitions signifient que son rôle fut seulement significatif en E1 (Tableau V). Les estimations du composant additif ($\hat{D}$) sont plus élevées en amplitude que celles du composant de dominance ($\hat{H}$) en E2, alors que la situation est inverse en E1 (Tableau VI). Les estimations du degré moyen de dominance (Tableau VI) indiquent une dominance partielle (0,392) à incomplète (0,237) pour cette caractéristique en E1 et E2 respectivement. Jeong et coll. (1986) rapportèrent également une dominance partielle pour cette caractéristique. La direction de dominance ($\hat{F}$) est négative et non - significative. Ainsi, la dominance est ambidirectionnelle dans les deux environnements en raison de l'effet d'annulation des allèles de type croissant et décroissant.

La plupart des caractéristiques étudiées montrent une prépondérance de la variance génétique additive et un ratio de dominance partielle qui indique une plus grande importance de la variance de la valeur du breeding dans l'hérédité de ces caractères. Ceci est confirmé par les travaux de Kamili et coll. (1998) qui observèrent une amplitude plus grande des effets de gènes épistatiques additif x additif dans l'hérédité de ces caractéristiques. Ainsi, la sélection sur ces caractères serait très efficace si l'on isolait les consanguins selon la méthode du pedigree, ce qui impliquerait la sélection de types transgressifs par l'accumulation de gènes favorables. Le développement des cultures hybrides pour l'exploitation commerciale utilisant les effets d'hétérons est à conseiller pour les caractéristiques qui révèlent une influence supérieure des effets des gènes dominants. Afin d'utiliser les deux types de variance, une sélection réciproque serait salutaire pour le développement de populations élite après sélection de lignées à haut rendement chez les générations avancées. Les croisements consanguins suivis par une sélection peuvent convertir des enchaînements de phase de couplage en enchaînement de phase de répulsion, ce qui augmenterait certainement la fréquence des recombinants désirables et par voie de conséquence, diffuserait une plus grande quantité de variabilité cachée, particulièrement de type additif.

COLOUR DIVERSITY AMONG COCOONS OF TROPICAL TASAR ECORACES OF *A. PAPHIA* L. AND *A. MYLITTA* D. (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE) AT THREE DIFFERENT ALTITUDE ZONES IN ORISSA

B. K. NAYAK, K. B. G. PATRO* & M. C. DASH**

Zonal Sericulture Office, Chandragiri - 761 017, India.

Different types of coloured cocoons are found in different ecoraces of A. paphia and A. mylitta at different altitude ranges. The percentage occurrence of different coloured cocoons both altitudewise and ecoracewise showed significant differences. The occurrence of colour combination was found to be specific to a particular type of climatic regime. Lighter cocoons increased at lower altitudes whereas darker ones increased with increase in altitude.

Keywords: Cocoon, ecorace, colour polymorphism, diversity, dominance, altitude.

INTRODUCTION

The tropical tasar silk in India is produced by two species, the semi - domesticated *Antheraea mylitta* D. and the wild form *Antheraea paphia* L. (Lepidoptera: Saturniidae). The former includes two ecoraces - trivoltine Sukinda and bivoltine Daba, whereas the latter includes three ecoraces - trivoltine Bogai, the bivoltine Nalia and univoltine Modal. The occurrence of these ecoraces is specific to a definite climatic situation at an altitude gradient. The tropical tasar species is holometabolic and at the end of larval stage the caterpillar spins a tasar silk cocoon for protection during diapause.

Distinct colour - morphism is seen among cocoons produced by different ecoraces at a given altitude as well as among cocoons from different altitudes. But study on differentiation of cocoons on the basis of their colour and the possible explanation of such difference in tropical tasar species is entirely lacking. However, occurrence, light requirement, purification and properties of colour pigments in the cocoons of Japanese oak tasar *A. Yamamai* have been studied by Kato and Yamada (1988, 1990) and Kato *et al.* (1989). Colour polymorphism in *A. assamensis* (Narasimhana, 1967; Thangavelu *et al.*, 1984) and in *B. mori* (Ohashi *et al.*, 1983) is also reported. Considering the virginity of the field, a study was conducted to throw some light on the factors responsible for occurrence of colour morphism among cocoons of different tropical tasar ecoraces.

MATERIALS AND METHODS

Cocoons of Daba and Sukinda ecorace of *A. mylitta* and Bogai, Nalia and Modal ecorace of *A. paphia* were collected as per their specific occurrence from three altitude ranges of 01 - 300 m ASL, 301 - 600 m ASL and 601 - 1000 m ASL @ 1000 cocoons of every available ecorace from each altitude range during the rainy season (July - August). The cocoons were grouped together according to their colour combination and the percentage occurrence was recorded and the mean value calculated. Mean values of climatic parameters of each altitude range were recorded as per Venkiteswaran (1956).

* Directorate of Textiles, Bhubaneswar - 751 007, India.

** State Pollution Control Board, Bhubaneswar, India.

The experiment was repeated for four subsequent years and mean of mean values of climatic parameters as well as colour combination so obtained are shown at Table I and Table II respectively. Comparisons were made among different colour groups as well as among different altitude ranges by using 't' test as per Sokal and Rohlf (1981). Shannon - Weaver (1963) diversity index (H) and Simpson (1949) dominance index (D) were used to quantify cocoon colour diversity and dominance as in Dash (1993).

RESULTS

Seven types of coloured cocoons viz. black, yellow, brown, grey, yellow black, grey black and yellow grey were seen to occur. Black coloured cocoons were restricted to *A. paphia* whereas those of yellow colour to *A. mylitta*. Grey black and yellow black cocoons appeared in all ecoraces except Sukinda whereas yellow grey cocoons appeared in all except Nalia and Modal. In addition grey and brown cocoons were not seen in Modal. Thus, Sukinda, Daba, Bogai, Nalia and Modal had four, six, six, five and three types of coloured cocoons respectively (Table II). The 't' test on percentage of colour combination among different colour groups (Table III) as well as among different altitude ranges (Table IV) showed highly significant values.

Simpson dominance index (D) and Shannon - Weaver diversity index (H) has been presented at Table V. It was seen that in *A. mylitta* dominance of colour groups remained low (0.345 Sukinda and 0.327 Daba) and diversity was high (1.180 Sukinda and 1.307 Daba) whereas a reverse trend was observed in case of *A. paphia*. At 01 - 300 m ASL and 301 - 600 m ASL, cocoons had high colour diversity and low dominance whereas at 601 - 1000 m ASL lower dominance ($D = 0.404$) and higher diversity ($H = 0.999$) was observed.

DISCUSSION

Colour polymorphism in insects is a well known phenomenon and the allelic expression of colour - morphs is largely due to the alteration in extrinsic and/or intrinsic factors influencing pigment metabolism. It is also known that the individual members of any out - breeding natural population often show variations in their phenotype and physiological adaptations under different conditions of nutrition, crowding and other factors of the environment such as temperature and photoperiod.

In Japanese oak tasar silkworm *A. yamamai* cocoon, colour pigments are induced by irradiation at larval stage and the pigments are either bile pigment of verdin type (yellow) or is a glycosylated flavonoid (Kato and Yamada, 1990). Further, it has been established that light stimulates the formation of green pigmentation of silk glands with its direct action on the haemolymph, but not through a neuroendocrine organ such as the brain (Kato and Yamada, 1988; Yamada and Kato, 1988). Appearance of emerald green coloured cocoon in *A. yamamai* was due to deficiency of yellow pigment (Nakada *et al.*, 1994).

Colour polymorphism in *A. mylitta* and *A. paphia* also appears to be influenced by the environmental factors. In *A. mylitta* percentage occurrence of yellow, yellowgrey and brown colour decreased whereas grey, yellowblack and greyblack colour had increased with rise in altitude. In an altitudinal gradient from 01 to 1000 m ASL, temperature and photoperiod decreased with increase in altitude. Increase in altitude normally accompanied with cooler climatic condition, puts stress on the appearance of yellow, yellowgrey and brown colours. Similarly lower altitude and warmer climate put stress on appearance of greyblack, yellowblack cocoons since they appeared only at 301 - 600 m ASL. In *A. paphia* percentage occurrence of grey, greyblack, yellowgrey and brown colours had a decreasing trend, whereas black, yellowblack colours had an increasing trend with progress of altitude. In other words the higher altitude and cooler climatic condition put stress on appearance of the former colour groups having decreasing trend and lower altitude and warmer climate put stress on the appearance of latter colour groups having increasing trend (Table II).

Table I. Mean of mean values of some environmental parameters at three altitude zones in Orissa during the period of cocoon production in rainy season (July - August).

Tableau I. Moyenne des valeurs moyennes de certains paramètres environnementaux, à trois altitudes différentes en Orissa, pendant la période de production de cocons de la saison des pluies (juillet - août).

Parameter / Paramètre	01 - 300 (m ASL)	301 - 600 (m ASL)	601 - 1000 (m ASL)
Mean maximum temperature of the season (° C) <i>Moyenne des températures maximum de la saison (° C)</i>	35.14 (0.27)	31.67 (0.17)	27.84 (0.38)
Mean minimum temperature of the season (° C) <i>Moyenne des températures minimum de la saison (° C)</i>	22.78 (0.73)	20.50 (0.37)	17.23 (0.39)
Average temperature of the season (° C) $\frac{1}{2}$ (Max. + Min.) <i>Moyenne des températures moyennes de la saison (° C)</i>	28.96 (0.47)	26.08 (0.22)	22.55 (0.37)
Highest temperature occurred in any single day of the season (° C) <i>Température la plus haute pendant un jour de la saison (° C)</i>	38.33 (0.59)	35.30 (0.76)	31.06 (0.30)
Lowest temperature occurred in any single day of the season (° C) <i>Température la plus basse pendant un jour de la saison (° C)</i>	21.53 (0.59)	19.33 (0.71)	16.26 (0.18)
Duration of sunshine (hrs / month) (recorded at 0.2 to 0.4 cal / cm ² / min) <i>Durée d'ensoleillement (h / mois)</i> (enregistrée de 0,2 à 0,4 cal / cm ² / min)	134.49 (8.49)	100.46 (6.54)	69.60 (4.81)
Day length (hrs) (Sun rise to sun set) <i>Durée d'ensoleillement (du lever au coucher du soleil)</i>	13.12 (0.04)	12.78 (0.04)	12.38 (0.08)
Mean relative humidity prevailed in the season (%) <i>Humidité moyenne relative pendant la saison (%)</i>	89.64 (1.02)	86.15 (1.75)	88.47 (2.81)
Total rainfall in the season (mm) <i>Total des précipitations de la saison en mm</i>	505.86 (110.40)	556.72 (59.72)	608.74 (59.98)
Total rainy days in the season (≥ 1 mm rain fall) <i>Total des jours de pluie pour la saison (≥ 1 mm de précipitations)</i>	38.46 (2.56)	41.38 (1.26)	50.14 (1.96)
Total stormy weather period in the season (hrs) <i>Total des périodes de temps orageux pdt la saison (heures)</i>	4.52 (1.72)	4.69 (1.83)	4.98 (1.87)

Figures in parentheses are SD (Standard Deviation) values / Les chiffres entre parenthèses sont des valeurs Ecart type. (m ASL) = meters Above Sea Level / mètres au - dessus du niveau de la mer.

Table II. Percentage occurrence of different types of coloured cocoons in tropical tasar silk ecoraces at three altitude zones (Mean of mean values)*Tableau II. Proportions des différents types de cocons colorés chez les écoraces de ver à soie tasar tropical à trois altitudes (Moyenne des valeurs moyennes).*

Altitude (m ASL)	Silkworm species and ecorace	Black	Grey	Yellow	Grey black	Yellow black	Yellow grey	Brown
<i>Altitude (m au-dessus du niveau de la mer)</i>	<i>Espèces de vers à soie et d'écorace</i>	<i>Noir</i>	<i>Gris</i>	<i>Jaune</i>	<i>Gris noir</i>	<i>Jaune noir</i>	<i>Jaune gris</i>	<i>Brun</i>
01 - 300	<i>A. mylitta</i> Sukinda	—	27.00 (0.31)	20.20 (0.43)	—	—	47.73 (1.08)	5.07 (0.46)
301 - 600	Daba	—	33.66 (0.44)	13.53 (0.33)	2.15 (0.24)	3.55 (0.28)	43.98 (0.31)	3.13 (0.25)
01 - 300	<i>A. paphia</i> Bogei	1.91 (0.20)	8.24 (0.17)	—	81.12 (0.47)	3.56 (0.45)	1.53 (0.29)	3.84 (0.20)
301 - 600	Nalia	12.03 (0.28)	1.88 (0.16)	—	72.04 (0.35)	12.47 (0.36)	—	1.23 (0.38)
601 - 1000	Modal	24.11 (0.59)	—	—	54.98 (0.51)	20.91 (0.52)	—	—

Figures in parentheses are SD (Standard Deviation) values / Les nombres entre parenthèses sont des valeurs d'écart type.

The increasing and decreasing trend of various colour groups with progress of altitude indicated that the cocoon colour tends to be more black at higher altitude having short photoperiod and low temperature regime. Darker cocoons are more efficient at solar absorption in cold areas or seasons, whereas light coloured morphs avoid over heating in hot areas or times of the year and thus appear to be efficient in maintaining the thermal balance inside the cocoon shell which is very much essential for the diapausing pupa to live and pass by the cold and summer hardiness.

Table III. The 't' test on percentage occurrence of colour combinations among colours.

Tableau III. Le test 't' sur l'incidence en pourcentage des combinaisons de couleurs parmi les couleurs.

S1. Test parameter / Paramètres de test No	<i>A. paphia</i>			<i>A. mylitta</i>	
	01 - 300m ASL (Bogei)	301 - 600m ASL (Nalia)	601 - 1000m (Modal)	01 - 300m (Sukinda)	301 - 600m (Daba)
1 Black - grey / Noir - gris	57.187*	70.382*	—	—	—
2 Black - yellow / Noir - jaune	—	—	—	—	—
3 Black - greyblack / Noir - gris noir	352.763*	302.041*	88.576*	—	—
4 Black - yellowblack / Noir - jaune noir	7.627*	2.160 NS	9.099*	—	—
5 Black - yellowgrey / Noir - jaune gris	2.485***	—	—	—	—
6 Blackbrown / Noir brun	16.059*	51.275*	—	—	—
7 Grey - yellow / Gris - jaune	—	—	—	28.745*	81.983*
8 Grey - greyblack / Gris - gris noir	326.411*	409.897*	—	—	140.682*
9 Grey - yellowblack / Gris - jaune noir	21.762*	60.225*	—	—	129.315*
10 Grey - yellowgrey / Gris - jaune gris	29.848*	—	—	41.277*	42.978*
11 Grey - brown / Gris brun	37.602*	3.531**	—	88.447*	135.160*
12 Yellow - greyblack / Jaune - gris noir	—	—	—	—	62.471*
13 Yellow - yellowblack / Jaune - jaune noir	—	—	—	—	51.563*
14 Yellow - yellowgrey / Jaune - jaune gris	—	—	—	53.014*	150.442*
15 Yellow - brown / Jaune - brun	—	—	—	53.754*	56.309*
16 Greyblack - yellowblack Gris noir - jaune noir	266.570*	266.899*	104.591*	—	8.513*
17 Greyblack - yellowgrey Gris noir - jaune gris	262.808*	—	—	—	238.748*
18 Greyblack - brown / Gris noir - brun	388.447*	308.273*	—	—	6.324*

Table III (Continued).

Tableau III (Suite).

Sl. No.	Test parameter / Paramètres de test	<i>A. paphia</i>			<i>A. mylitta</i>	
		01 - 300m ASL (Bogei)	301 - 600m ASL (Nalia)	601 - 1000m (Modal)	01 - 300m (Sukinda)	301 - 600m (Daba)
19	Yellowblack - yellowgrey <i>Jaune noir - Jaune gris</i>	7.501*	—	—	—	216.677*
20	Yellowblack - brown <i>Jaune noir - brun</i>	1.272 NS	48.028*	—	—	2.505***
21	Yellowgrey - brown / <i>Jaune gris - brun</i>	10.610*	—	—	81.259*	229.835*

* = $P < 0.001$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.05$, NS = Not significant / Non significatif, '—' Absent

Table IV. The 't' test on percentage occurrence of colour combinations among different altitudes.

Tableau IV. Le test 't' sur le pourcentage des combinaisons de couleur à différentes altitudes.

Constant factor	Test parameter (Altitude)	Black	Grey	Yellow	Greyblack	Yellow black	Yellow grey	Brown
Facteur constant	Paramètre de test (Altitude)	Noir	Gris	Jaune	Gris noir	Jaune noir	Jaune gris	Brun
<i>A. mylitta</i>	01 - 300 301 - 600	27.667*	27.533*	20.113	28.490*	7.466*	8.289*	
<i>A. paphia</i>	01 - 300 301 - 600	68.083*	60.940*	—	33.300*	34.611*	6.077*	13.618*
	01 - 300 601 - 1000	80.500*	108.381*	—	84.341*	56.441*	6.077*	6.071*
	301 - 600 601 - 1000	41.428*	26.303*	—	63.022*	29.851*	—	7.256*

* = $P < 0.001$, '—' Absent.

Table V. Simpson dominance index (D) and Shannon - Weaver diversity index (H) on colour diversity among tasar ecoraces at different altitudes.

Tableau V. Index de dominance (D) de Simpson et de diversité (H) de Shannon - Weaver sur la diversité des couleurs parmi les écoraces tasar à des altitudes différentes.

Altitude (m ASL)	Simpson Dominance index (D)*	(1 - D) (Diversity)	Shannon - Weaver (H)**	Diversity index H / Log _e S (Diversity)
<i>Altitude</i>	<i>Index (D) de dominance de Simpson</i>	<i>(1 - D) (Diversité)</i>	<i>Shannon - Weaver (H)**</i>	<i>Index de diversité H / Log_eS (Diversité)</i>
<i>A. mylitta</i> 01 - 300 (Sukinda)	0.345	0.655	1.180	0.606
301 - 600 (Daba)	0.327	0.673	1.307	0.672
<i>A. puphia</i> 01 - 300 (Bogei)	0.668	0.332	0.751	0.386
301 - 600 (Nalia)	0.555	0.445	0.878	0.451
601 - 1000 (Modal)	0.404	0.596	0.999	0.513

* The value of 'D' varies from 1 = 0 and is weighed in favour of the common species (Colour)

D = 1 when there is complete dominance i.e. there is only one colour.

D = 0 when there is no dominance i.e. numerous colour groups are there.

* La valeur de 'D' varie de 1 à 0 et est pesée à l'avantage des espèces communes (Couleur)

D = 1 lorsqu'il y a dominance totale, c'est à dire une seule couleur.

D = 0 lorsqu'il n'y a pas de dominance, c'est à dire lorsque plusieurs groupes de couleur sont là.

** Value of 'H' may be 1 or more than 1, but for comparison with 'D' it is scaled to 1 = 0 scale by Log_e of S.

Thus the value of 'H' varies from 1 = 0 and is weighed in favour of the rare ones.

H = 1, when diversity of colour is maximum i.e. dominance is less, colour groups are mature and stable.

H = 0, when diversity of colour is minimum i.e. dominance is more.

Lower diversity is exhibited by communities under severe stress.

** La valeur de 'H' peut être de 1 ou supérieure à 1 mais pour la comparer avec 'D', elle est échelonnée de 1 à 0 par Log_e de S. En conséquence, la valeur de 'H' varie de 1 à 0 et est pesée à l'avantage des plus rares.

H = 1, lorsque la diversité des couleurs est maximum i.e. lorsque la dominance est moindre, les groupes de couleur sont stables.

H = 0, lorsque la diversité des couleurs est minimum i.e. lorsque la dominance est plus importante.

Une diversité moindre est présentée par des communautés exposées à un stress sévère.

Nayak and Dash (1991) opined that voltinism in tropical tasar species is regulated by altitude. According to them, while descending from higher to lower altitude conducive climatic situation tempt the silkworm to repeat its life cycle more times lessening the diapause period that occurs due to the unstable conditions which put stress on the life cycle and thereby on voltinism. The altitude range 601 - 1000 m ASL, was found to be a total stress zone for *A. mylitta*, whereas for *A. paphia* it was a severe stress zone stable only during rainy season making it univoltine with only one brood during that season (Nayak, 1996). Under stress condition the number of rare colour cocoons were reduced. Under severe stress condition prevailed at 601 - 1000 m ASL, only few colour groups in *A. paphia* such as black, greyblack survived and frequency of their occurrence were very high (24.11; 54.98 and 20.91 respectively) (Table II). Though the diversity of colour groups were reduced but their dominance were increased. The ecosystem at the above three altitude zones were considered stable for tasar silkworms in ecological sense since the structure and function of the percentage occurrence of colour morphs in both the species at a given altitude remained more or less the same from year to year from 1990 to 1994 which was evident from the lower value of the standard deviation (SD).

A. mylitta showed high diversity and low dominance at low altitude range. Thus the ecosystem prevailed at 01 - 300 m ASL found to be stable, and less productive for *A. mylitta*. *A. paphia* showed low diversity and high dominance at 01 - 300 m ASL and 301 - 600 m ASL. The diversity was slightly high and dominance was little less in *A. paphia* at 601 - 1000 m ASL. Thus, for *A. paphia* the ecosystem prevailed at 01 - 300 m and 301 - 600 m ASL was considered to be more productive but unstable. On the other hand, the ecosystem prevailed at 601 - 1000 m ASL for *A. paphia* was considered stable and matured during rainy season but little less productive which arise due to the extreme climatic condition (severe stress condition) prevailed at this altitude for rest of the period. Thus in tasar silkworms dominance is related to diversity and stability. The productivity and stability of different colour groups were also found to be correlated with its dominance and diversity percentage in the same manner as dominance and diversity index were correlated (Table V).

In addition to the above discussions it may also be stated that tasar caterpillar is a polyphagous insect, that feeds on a variety of food plants. Though both *A. mylitta* and *A. paphia* are commercially reared on *T. alata* and *T. arjuna* plants at 01 - 600 m ASL, *A. paphia* is preferably grown in wild condition in deep forest on *S. robusta* food plant at 301 - 1000 m ASL. At a higher altitude *S. robusta* is the dominant food plant whereas at low and medium altitude *T. alata* and *T. arjuna* are the dominant ones (Nayak, 1996). The trunk colour of *T. arjuna* is smooth and greenishgrey or yellowishgrey, *T. alata* is blackishgrey or yellowishgrey and that of *S. robusta* is blackishgrey. The colour of the cocoons grown on different food plants appear to have certain resemblances with the trunk colour of the host plants and thus able to produce mimicry during the leaf fall season since mimicry is considered as a mean of self defence. Thus the colour polymorphism also appears to be influenced by food plants and substrates.

Analysis of cocoon colour pigments showed mixture of various colour pigments in Japanese oak tasar silkworm *A. yamamai*. Mixture of blue and yellow pigments produce green colour in the larva of *A. yamamai* (Kato *et al.*, 1989). The blue pigment may be high protein pigment complex and a low pigment molecule itself. Yellow pigment was in the form of high molecular compound (Yamada and Kato, 1988, 1994 a). The blue bilin has been identified as sarpredobilin (Yamada and Kato, 1994 b). Jolly *et al.* (1979) mentioned that three carotenoids i.e., β - carotene, canthaxanthin and cryptaxanthin are common in cocoons harvested from *S. robusta*, *T. alata* and *T. arjuna* plants. In addition cocoons grown on *S. robusta* trees contain zeaxanthin, lutein, lycopene and echinenone whereas cocoons grown on *T. alata* and *T. arjuna* have lutein and violaxanthin respectively. As for flavonoid pigments the cocoons grown on *S. robusta* tree contain quercitrin and those of *T. arjuna* isoquercitrin in the form of glycosides. Besides, catechin and epicatechin are present in *S. robusta* grown cocoons and quercetin and rhamnetin in *T. alata* grown cocoons as free flavonoids. Cocoons grown on *T. arjuna* plant contain myricetin and quercetin. The presence of carotenoid and flavonoid - like pigments has been detected in the above primary tasar food plants (Jolly *et al.*, 1979). Thus it appears that the food

plant also have influence over the colour polymorphism of tasar cocoons. Since the dominance of *S. robusta*, *T. alata* and *T. arjuna* differed at an altitude gradient (Nayak, 1996) due to differences in the climatic condition of the respective altitude it may be added that here again the altitude proved itself to have indirect influence over colour polymorphism.

However ecological factors appeared to influence genetic variability in tasar silkworm as may be seen from the occurrence of definite colour types in a given cocoon throughout the years of experiment. According to Sengupta *et al.* (1993), hereditary mechanisms have undergone adaptive evolution towards efficient internal balance and the external environment and its result is reflected in the biological, physiological and behavioural characters.

Occurrence of cocoon colour polymorphism in the tasar silkworm is indicative of heterozygous conditions of genetic structure of the population as it was marked in Muga silkworm *A. assamensis* (Thangavelu *et al.*, 1984). Some of the colour - morphs in silkworms are also reported to be genetical (Narasimhana, 1967; Jolly *et al.*, 1967, 1969, 1970, 1973, 1974).

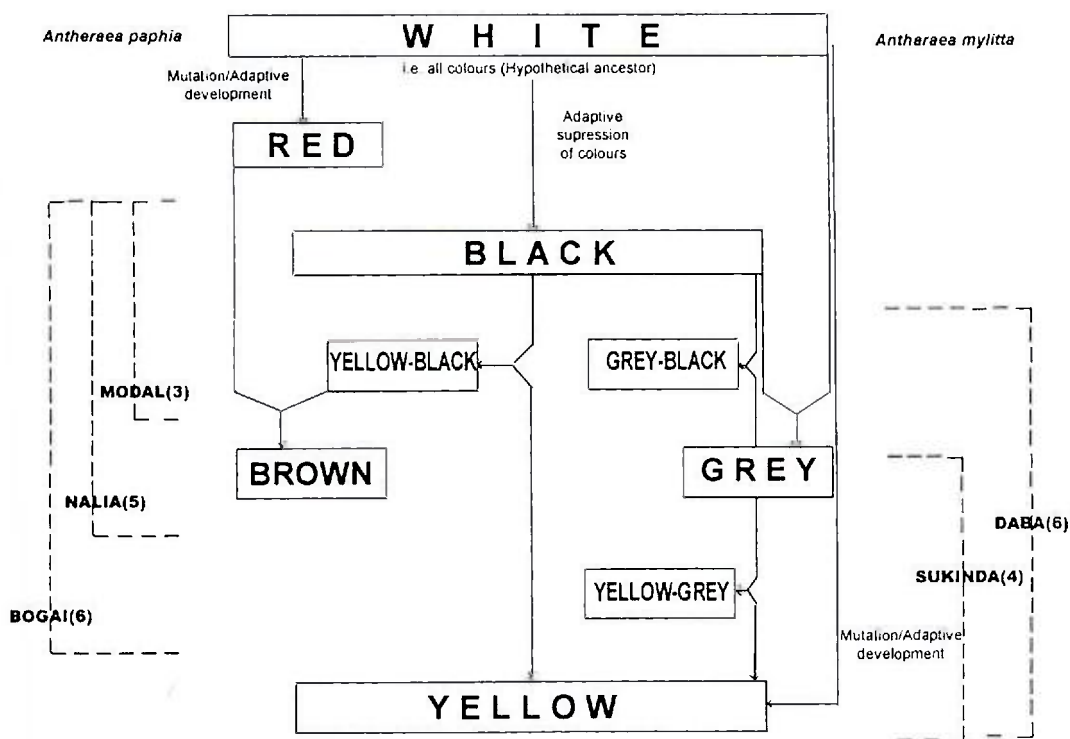


Fig. 1. Hypothetical representation of origin and evolution of colour polymorphism in tropical tasar cocoons. Figures within brackets indicate diversity of colour polymorphism.

Fig. 1. Représentation hypothétique de l'origine et de l'évolution du polymorphisme des couleurs chez les cocons tasar tropicaux. Les chiffres entre parenthèses indiquent la diversité du polymorphisme des couleurs.

Since there is almost no mating barriers among different ecotypes of *A. paphia* and *A. mylitta* the role of genetics through exchange of genes in the origin and evolution of cocoon colour can not be tossed away as such. A hypothetical representation based on possible genetic interaction in the origin and evolution of different colours is shown at Figure 1. The representation not only provides important clues to the genetic basis of origin of different colours but also throw light on phylogeny of cocoon colours by supposedly reckoning the possibility of existence of white and red colour cocoons in the ancestors of tropical tasar species (Fig. 1).

Consequent upon the overall discussion it seems that hereditary studies are strongly required to separate phenotypic variance into its environmental and genotypic components. Moreover, the genetic diversity of colour morphs offer scope for exploitation of hybrid vigour as it has been practised in Chinese oak tasar *A. pernyi* (Liu *et al.*, 1994 a, b).

REFERENCES

- DASH M. C. (1993) Fundamentals of Ecology. Tata Mc Graw - Hill Publishing Company Ltd., New Delhi, pp. 1 - 373.
- JOLLY M. S., NARASIMHANNA M. N. & CHATURVEDI S. N. (1967) A yellow body mutant of tasar silkworm, *A. mylitta* D. *Genetica Agraria*, 21: 13 - 19.
- JOLLY M. S., NARASIMHANNA M. N. & BARDAIYAR V. N. (1969a) Almond body mutant in *A. mylitta* D. Its origin and pattern of inheritance. *Genetica*, 40: 421 - 426.
- JOLLY M. S., NARSIMHANA M. N., SINHA S. S. & SEN S. K. (1969b) Interspecific hybridisation in *Antheraea*. *Indian J. Hered.*, 1: 45-48.
- JOLLY M. S., NARASIMHANNA M. N. & WARATKAR V. B. (1970) Inheritance of larval body colour in *Antheraea mylitta* Drury. *Genetica Agraria*, 22: 271 -276.
- JOLLY M. S., BARDAIYAR V. N. & SINHA S. S. (1974) Inheritance of larval body colour in *Antheraea mylitta* D. Proc. 1st Int. Sem. on Non - mulberry silk, 4 - 5 Oct. Central Silk Board, Ranchi, pp. 66 - 67.
- JOLLY M. S., BARDAIYAR V. N., SINHA S. S. & RAZDAN J. L. (1973) Inheritance of larval body colour in *Antheraea mylitta* Drury - II. *Indian J. Seric.*, 12 (1): 22 - 26.
- JOLLY M. S., SEN S. K., SONWALKER T. N. & PRASAD G. K. (1979) Non - mulberry silk. F. A. O. Agricultural Bulletin, Rome, 29: 1 - 178.
- KATO Y., ONUMA Y., SAKURAI K. & YAMADA H. (1989) Role of light in the green pigmentation of cocoon of *Antheraea yamamai* (Lepidoptera: Saturniidae). *Appl. Ent. Zool.*, 24: 398 - 406.
- KATO Y. & YAMADA H. (1988) Light requirement for the green pigmentation of cocoons in the wild silkworm *Antheraea yamamai*. *Wild Silkmoths* (1988), pp. 33 - 40.
- KATO Y. & YAMADA H. (1990) Cocoon pigments in the Japanese oak silkworm *Antheraea yamamai*. 1st Int. Conf. on wild silk moths, 25 - 30 Aug. 1990, Shengang, China, Int. Soc. Wild silk moths, Abstract No. 217, p. 14.
- LIU Z., LIU Y., REN Z. & ZHANG X. (1994 a) Genetical studies on the larvae's skin colours of Chinese tusser (I). 2nd Int. Conf. on wild silk moths, 18 - 22 Aug. 1994, Hotaka, Japan. Int. Soc. Wild Silk moths, Abstract No. 401, p. 18.
- LIU Z., LIU Y., REN Z. & ZHANG X. (1994 b) Genetical studies on the larvae's skin colour of Chinese tusser (II). 2nd Int. Conf. on wild silk moths, 18 - 22 Aug. 1994, Hotaka, Japan. Int. Soc. Wild Silk moths, Abstract No. 402, p. 19.
- NAKADA T., SAHARA K., KICHUKI K. & SAITOH H. (1994) On the new cocoon colour strain, emerald green (EG) in Japanese tusser, *Antheraea yamamai*. 2nd Int. Conf. on Wild Silk Moths, 18 - 22 Aug. 1994, Hotaka, Japan. Abstract No. 407, p. 21.
- NARASIMHANNA M. N. (1967) Inheritance of larval body colour in eri silkworm *Philosamia ricini* Boisd. and its genetic interpretation. *Indian J. Seric.*, 1 (2): 119 - 122.
- NAYAK B. K. & DASH M. C. (1991) Environmental regulation of vortinism in *Antheraea mylitta* Drury, the Indian tasar silk insect. *Sericologia*, 31: 474 - 486 (France).

- NAYAK B. K. (1996) Ecology of tasar silkworms of Orissa (resource survey, reproductive biology, feeding and commercial rearing) Ph. D. Thesis (Unpublished), Sambalpur University, Orissa.
- SENGUPTA A. K., SINHA A. K. & SENGUPTA K. (1993) Genetic reserves of *Antheraea mylitta* Drury. *Indian Silk*, 32 (5): 39 - 46.
- SOKAL R. R. & ROHLF F. J. (1981) Biometry, W. A. Freeman and Co., Sanfrancisco, pp. 859.
- THANGAVELU K., BHAGOWATI A. K. & CHAKRABORTY A. K. (1984) Colour polymorphism in muga silkworm, *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera: Saturniidae). *Curr. Sci.*, 53 (11): 594 - 595.
- VENKITESWARAN S. P. (1956) Instructions for setting up a crop weather observatory, Agrimet. Technical circular No. 20, Indian Meteorological Department, Puna, pp. 1 - 7.
- YAMADA H. & KATO Y. (1988) Purification and properties of a blue chromoprotein in the haemolymph of the Japanese oak silkworm *Antheraea yamamai*. *Wild silkmths*, 1988, 41 - 48.
- YAMADA H. & KATO Y. (1994 a) Analyses of cocoon pigments from the silk gland of the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai*. *Int. J. Wild silkmth and Silk*, 1: 50 - 52.
- YAMADA H. & KATO Y. (1994 b) NMR analyses of blue bilin from the cocoon of the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai*. *Int. J. Wild silkmth and silk*, 1: 56 - 59.

DIVERSITE DE COULEURS DES COCONS CHEZ LES ECORACES DE TASAR TROPICAL *A. PAPHIA* L. ET *A.* *MYLITTA* D. (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE) A TROIS ALTITUDES DIFFERENTES EN ORISSA

B. K. NAYAK, K. B. G. PATRO* & M. C. DASH**

Zonal Sericulture Office, Chandragiri - 761 017, Inde.

*Les diverses écoraces de *A. paphia* et de *A. mylitta* produisent différents types de cocons colorés, à des zones d'altitude différentes. Les proportions des différentes couleurs de cocons diffèrent significativement selon l'altitude et l'écorace. Les combinaisons de couleurs sont spécifiques d'un type particulier de régime climatique. Les cocons de couleurs plus claires sont plus fréquents à des altitudes plus basses, alors que les plus foncées sont plus fréquentes aux altitudes élevées.*

INTRODUCTION

La soie tropicale tasar est produite en Inde par deux espèces : l'espèce semi - domestiquée *Antheraea mylitta* D. et l'espèce sauvage *Antheraea paphia* L. (Lepidoptera : Saturniidae). La première comprend deux écoraces - la trivoltine Sukinda et la bivoltine Daba, alors que la seconde en comprend trois - la trivoltine Bogai, la bivoltine Nalia et la monovoltine Modal. La fréquence de ces écoraces est spécifique à la situation climatique définie sur le gradient d'altitude. Les espèces tropicales tasar sont holométaboles et à la fin du stade larvaire, la chenille file un cocon de soie tasar pour sa protection pendant la diapause.

Il existe des formes et des couleurs distinctes chez les cocons produits par les différentes écoraces à une altitude donnée, ainsi que chez les cocons provenant d'altitudes différentes. Cependant, l'étude de la différenciation des cocons sur la base de leur couleur et l'explication possible d'une telle différence chez les espèces tropicales tasar, fait sérieusement défaut. Néanmoins, la fréquence, les besoins en lumière, la purification et les propriétés des pigments de couleur des cocons de l'espèce japonaise tasar du chène *A. Yamamai* ont été étudiés par Kato et Yamada (1988, 1990) et par Kato et coll. (1989). Le polymorphisme des couleurs chez *A. assamensis* (Narasimhana, 1967 ; Thangavelu et coll., 1984) et chez *B. mori* (Ohashi et coll., 1983) a également été observé. Etant donné l'absence d'informations dans ce domaine, une étude a été menée afin d'avoir quelques idées sur les facteurs responsables du polymorphisme de la couleur des cocons chez les différentes écoraces tropicales tasar.

MATERIELS ET METHODES

Les cocons Daba et Sikinda provenant de l'écorace *A. mylitta* et les cocons Bogai, Nalia et Modal provenant de *A. paphia* ont été collectés dans trois zones d'altitude différentes se situant entre 01 - 300 m, entre 301 - 600 m et entre 601 - 1000 m, à raison de 1000 cocons provenant de chacune des écoraces disponibles à chaque altitude, pendant la saison des pluies (juillet - août). Les cocons ont été

* Directorate of Textiles, Bhubaneswar - 751 007, Inde.

** State Pollution Control Board, Bhubaneswar, Inde.

rassemblés selon leur combinaison de couleurs. Leur fréquence a été enregistrée et la valeur moyenne calculée. Les valeurs moyennes des paramètres climatiques pour chaque zone d'altitude furent enregistrées selon la méthode de Venkiteswaran (1956).

L'expérience fut répétée pendant quatre années consécutives et la moyenne des valeurs moyennes des paramètres climatiques et des combinaisons de couleurs ainsi obtenues sont indiquées dans le Tableau I et dans le Tableau II respectivement. Des comparaisons ont été faites chez les différents groupes de couleur ainsi que suivant les différentes zones d'altitude, en utilisant le test 't' recommandé par Sokal et Rohlf (1981). L'index de diversité (H) de Shannon - Weaver (1963) et l'index de dominance (D) de Simpson (1949) ont été utilisés pour quantifier la diversité et la dominance des couleurs des cocons, ainsi que Dash l'avait effectué (1993).

RESULTATS

Sept types de cocons colorés, à savoir : noir, jaune, brun, gris, jaune noir, gris noir et gris jaune ont été observés. Les cocons noirs sont limités à *A. paphia*, et les jaunes à *A. mylitta*. Les cocons gris noir et jaune noir apparaissent chez toutes les écoraces, excepté chez Sukinda, alors que les cocons jaune gris apparaissent chez toutes les races sauf Nalia et Modal. En outre nous n'avons pas observé de cocons gris et bruns chez Modal. Ainsi, Sukinda, Daba, Bogai, Nalia et Modal présentent quatre, six, six, cinq et trois types de cocons colorés, respectivement (Tableau II). Le test 't' sur pourcentage de combinaison de couleurs chez les différents groupes de couleur (Tableau III), ainsi que pour chaque zone d'altitude (Tableau IV), indique des valeurs hautement significatives.

L'index de dominance (D) de Simpson et l'index de diversité de Shannon - Weaver sont présentés dans le Tableau V. Chez *A. mylitta*, la dominance des groupes de couleurs est peu élevée (0,345 pour Sukinda et 0,327 pour Daba), la diversité est élevée (1,180 pour Sukinda et 1,307 pour Daba), alors qu'une tendance inverse est observée chez *A. paphia*. Pour les zones comprises entre 01 et 300 m et 301 et 600 m d'altitude, les cocons montrent une plus grande diversité de couleurs et une dominance peu élevée, alors qu'entre 601 et 1000 m, la dominance est moindre (D = 0,404) et la diversité plus grande (H = 0,999).

DISCUSSION

Le polymorphisme des couleurs chez les insectes est un phénomène bien connu et l'expression des couleurs est largement due à l'altération de facteurs extrinsèques et / ou intrinsèques qui influencent le métabolisme de la pigmentation. Il est également connu que les individus d'une population naturelle dont les accouplements sont libres, montrent souvent des variations dans leur phénotype et dans leurs adaptations physiologiques lors de différentes conditions de nutrition, d'occupation de l'espace et d'autres facteurs de l'environnement tels que la température ou la photopériode.

Chez le cocon du ver à soie japonais du chêne tassar *A. yamamai*, les pigments de couleur sont induits par irradiation au stade larvaire et les pigments proviennent d'un pigment biliaire de type verdin (jaune), ou d'un flavonoïde glycosylé (Kato et Yamada, 1990). En outre, il a été établi que la lumière stimulait la formation de la pigmentation verte des glandes séricigènes avec une action directe sur l'hémolymphe, mais qui ne passerait pas par un organe neuroendocrine tel que le cerveau (Kato et Yamada, 1988 ; Yamada et Kato, 1988). L'apparition de cocons vert émeraude chez *A. yamamai* est due à une déficience en pigment jaune (Nakada et coll., 1994).

Le polymorphisme des couleurs chez *A. mylitta* et chez *A. paphia* semble également être influencé par des facteurs environnementaux. Chez *A. mylitta* le pourcentage des couleurs jaune, jaune grise et brune diminue, alors que celui des grise, jaune noire et grise noire augmente avec l'altitude. Dans un gradient d'altitude situé entre 01 et 1000 m, la température et la photopériode diminuent avec l'augmentation de l'altitude. Une altitude plus élevée, généralement accompagnée de conditions

climatiques plus fraîches, diminue l'apparition des couleurs jaune, jaune grise et brune. Parallèlement, des altitudes plus basses et un climat plus doux diminuent l'apparition des cocons de couleur gris noire et jaune noire puisqu'ils apparaissent seulement entre 301 et 600 m d'altitude. Chez *A. paphia* le pourcentage des couleurs gris, gris noir, jaune gris et brune a tendance à diminuer, alors que les cocons de couleur noire et jaune noire ont tendance à augmenter avec l'altitude. En d'autres termes, une altitude élevée et des conditions climatiques fraîches ont tendance à diminuer la fréquence du groupe de couleurs précédent, alors qu'une altitude plus basse et un climat plus doux ont tendance à augmenter l'apparition des couleurs de l'autre groupe (Tableau II).

La tendance à l'augmentation ou à la diminution de la fréquence des groupes de couleurs en fonction de l'altitude, indique que, en raison d'un régime de photopériode plus courte et de températures plus basses, la couleur des cocons tend à être plus foncée à une altitude plus élevée. Les cocons plus foncés sont plus efficaces en termes d'absorption solaire dans les régions où les saisons sont plus fraîches, alors que les couleurs plus claires éliminent le surplus de chaleur des régions où des saisons chaudes et semblent donc être efficaces dans le maintien de l'équilibre thermique à l'intérieur du cocon. Ceci est absolument essentiel à la chrysalide diapausante pour qu'elle puisse vivre et traverser les rigueurs de l'hiver et de l'été.

Nayak et Dash (1991) émettent l'avis que le voltinisme chez les espèces tropicales tassar est régulé par l'altitude. Selon eux, lorsque le ver à soie passe d'une altitude élevée à une altitude plus basse, les conditions climatiques favorables l'incitent à répéter son cycle plusieurs fois, ce qui réduit la période diapausante qui survient à cause des conditions instables qui stressent le cycle de vie et donc le voltinisme. La zone d'altitude située entre 601 et 1000 m est particulièrement stressante pour *A. mylitta*, alors que pour *A. paphia* cette zone est très stressante seulement pendant la saison des pluies, la transformant en une espèce monovoltine (Nayak, 1996). Sous des conditions de stress, le nombre de cocons de couleurs rares est réduit. Chez *A. paphia*, la zone située entre 601 et 1000 m est celle dont les conditions sont le plus stressantes et dans laquelle, seulement quelques groupes de couleur survivent, tels que noir et gris noir. Leur fréquence est très élevée (24,11 ; 54,98 et 20,91 respectivement) (Tableau II). Bien que la diversité des groupes de couleur soit réduite, leur dominance s'accroît. L'écosystème des trois zones d'altitude mentionnées plus haut, est considéré stable au sens écologique du terme, pour les vers à soie tassar, puisque la structure du pourcentage des couleurs chez les deux espèces à une altitude donnée, s'est maintenue de 1990 à 1994, ce qui est évident d'après la valeur la plus basse de l'écart standard (SD).

A. mylitta montre une grande diversité et une dominance faible dans la zone de basse altitude. L'écosystème prévalant entre 01 et 300 m apparaît stable et moins productif pour *A. mylitta*. *A. paphia* montre une diversité moindre et une dominance élevée pour les zones situées entre 01 et 300 m et entre 301 et 600 m. La diversité est légèrement élevée et la dominance l'est un peu moins chez *A. paphia* entre 601 et 1000 m. Par conséquent, pour *A. paphia*, les écosystèmes dominants de 01 à 300 m et de 301 à 600 m sont considérés comme étant plus productifs mais instables. D'autre part, l'écosystème dominant entre 601 et 1000 m, est considéré stable pendant la saison des pluies, mais légèrement moins productif ce qui est dû aux conditions climatiques extrêmes (conditions de stress sévères) qui dominent à cette altitude pendant le reste de la période. Ainsi, chez les vers à soie tassar, la dominance est en relation avec la diversité et la stabilité. La productivité et la stabilité des différents groupes de couleur sont corrélés avec les pourcentages de dominance et de diversité de la même manière que les index de dominance et de diversité sont corrélés entre eux (Tableau V).

On peut également considérer que la chenille tassar est un insecte polyphage, qui se nourrit d'une variété de végétaux. Bien que *A. mylitta* et *A. paphia* soient élevés commercialement avec les végétaux *T. alata* et *T. arjuna* entre 01 et 600 m d'altitude, *A. paphia* se porte mieux à l'état sauvage, en forêt profonde à une altitude située entre 301 et 1000 m et en se nourrissant de *S. robusta*. A une altitude plus élevée, *S. robusta* est le végétal dominant, alors qu'à basse et moyenne altitude ce sont *T. alata* et *T. arjuna* qui dominent (Nayak, 1996). La couleur du tronc de *T. arjuna* est lisse et d'un gris verdâtre ou d'un gris jaunâtre. *T. alata* est gris noir ou gris jaunâtre et *S. robusta* est gris noir. La couleur des

cocons a quelques ressemblances avec celle des troncs des plantes hôtes dont ils se nourrissent. Ainsi, le camouflage étant considéré comme un moyen d'auto - défense, l'espèce serait en mesure de présenter des capacités d'auto - défense pendant la saison de la chute des feuilles. Le polymorphisme des couleurs semble donc être également influencé par les végétaux et les substrats.

L'analyse des pigments de couleur des cocons révèle un mélange de pigments de couleurs variées chez le ver à soie japonais tasar du chêne *A. yamamai*. Un mélange de pigments bleus et jaunes produit une couleur verte chez la larve de *A. yamamai* (Kato et coll., 1989). Le pigment bleu pourrait être un complexe protéique et une petite molécule. Le pigment jaune se présente sous la forme d'un composé de poids moléculaire élevé (Yamada et Kato, 1988, 1994 a). La biline bleu a été identifiée comme étant la sarpedobiline (Yamada et Kato, 1994 b). Jolly et coll. (1979) mentionnent que trois caroténoïdes, à savoir, le β -carotène, la canthaxanthine et la cryptaxanthine sont fréquents chez les cocons nourris des végétaux *S. robusta*, *T. alata* et *T. arjuna*. En outre, les cocons élevés sur les arbres *S. robusta* contiennent de la zéaxanthine, de la lutéine, du lycopène et de l'échinénone, alors que les cocons élevés avec *T. alata* et *T. arjuna* renferment de la lutéine et de la violxanthine respectivement. En ce qui concerne les pigments flavonoides, les cocons élevés sur l'arbre *S. robusta* contiennent de la quercitrine et ceux élevés avec *T. arjuna*, de l'isoquercitrine sous la forme de glucosides. Par ailleurs, la catéchine et l'épicatéchine sont présentes chez les cocons obtenus avec *S. robusta* et la quercétine et la rhamnétine en tant que flavonoides libres, chez les cocons obtenus avec *T. alata*. Les cocons obtenus avec *T. arjuna* contiennent de la myricétine et de la quercétine. La présence de pigments de type caroténoïde et flavonoïde a été détectée chez les végétaux dont se nourrissent principalement la race tasar (Jolly et coll., 1979). Il semble donc que le végétal dont se nourrissent les vers à soie, exerce également une influence sur le polymorphisme des couleurs des cocons tasar. On peut ajouter ici encore que, en raison des différences de conditions climatiques aux altitudes respectives, l'altitude exerce une influence indirecte sur le polymorphisme des couleurs, puisque la dominance de *S. robusta*, de *T. alata* et de *T. arjuna* diffère en fonction du gradient d'altitude (Nayak, 1996).

Les facteurs écologiques semblent influencer la variabilité génétique du ver à soie tasar, comme on peut le constater d'après la fréquence des types de couleur définis chez une écorace donnée pendant la totalité des années consacrées à l'expérience. Selon Sengupta et coll. (1993), les mécanismes de l'hérédité ont subi une évolution au niveau de l'adaptabilité en vue d'un équilibre intérieur efficace, en fonction de l'environnement extérieur et dont le résultat est reflété dans les caractéristiques biologiques, physiologiques et comportementales.

L'occurrence du polymorphisme des couleurs des cocons du ver à soie tasar est indicative de la structure hétérozygotique de la population, comme cela est suggéré chez le ver à soie Muga *A. assamensis* (Thangavelu et coll., 1984). Certaines des couleurs des vers à soie sont également connues pour être génétiques (Narasimhana, 1967 ; Jolly et coll., 1967 ; 1969, 1970, 1973, 1974).

Puisqu'il n'existe pratiquement aucune barrière de reproduction chez les différentes écoraces de *A. paphia* et de *A. mylitta*, le rôle de la génétique dans l'échange des gènes à l'origine et au cours de l'évolution des couleurs des cocons, ne peut être écartée. Une représentation hypothétique basée sur la possibilité d'une interaction génétique depuis l'origine et au cours de l'évolution des différentes couleurs est indiqué sur la Figure 1. La représentation fournit non seulement d'importants indices concernant la base génétique de l'origine des différentes couleurs, mais éclaire le domaine de la phylogénie des couleurs des cocons, en tenant compte de la possibilité de l'existence de cocons blancs et rouges chez les ancêtres des espèces tropicales tasar (Fig. 1).

En conséquence de l'ensemble des discussions, il semble que des études sur l'hérédité soient fortement requises afin de répartir la variance phénotypique en composants génotypiques et environnementaux. En outre, la diversité génétique des couleurs ouvre un champ d'exploitation de la vigueur hybride tel que ceci a été pratiqué pour l'espèce chinoise tasar du chêne *A. pernyi* (Liu et coll., 1994 a, b).

MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN RUST - INFECTED MULBERRY LEAF

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA³

1, 2. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore 560 062, India.

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus,
Bangalore 560 056, India.

Peridiopsora mori Barclay (Prasad et al., 1993) a biotroph infecting leaves of mulberry (*Morus alba* L.) causes severe damage during August to February every year. Post-infectional changes in leaves include a marked decrease in thickness of cuticle and is preceded by inter and intracellular colonisation of mycelia. Concurrently, hypertrophy of some palisade and spongy parenchyma cells also takes place. The histomorphological changes include reduction in plastid numbers and leaf thickness. Near and around the substomatal cavity mycelia aggregate to form uredinia. The uredinium with subsessile, highly thick walled urediniospores gets surrounded by cellular peridial wall which is the characteristic feature of the fungus.

Keywords: Histopathology, host-pathogen interaction, hypertrophy, peridium, turgidity, uredinium.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus alba* L.) is cultivated for its foliage which forms the sole food of silkworms (*Bombyx mori* L.). The plant flourishes well in red loamy soil with an optimum temperature of 25°C and soil pH ranging from 6.5 to 7.3 with an annual rain fall of 50 to 800 mm. Mulberry is susceptible to many diseases caused by fungi, of which leaf spot, powdery mildew and leaf rust are the most important. Leaf rust is caused by *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et al., (Prasad et al., 1993) and shows maximum severity in India during August to February of each year. From the survey of literature it is clear that there is lack of information on the morphological, histopathological and physio-morphological changes that accompany urediniospore formation and the delicate adjustment between the rust fungus and mulberry leaf tissue.

Hence this investigation was carried out to ascertain the factors of histopathological changes and formation of urediniospores in mulberry leaves infected by *P. mori*.

MATERIALS AND METHODS

Urediniospores were harvested from infected leaves at KSSR&DI, Bangalore, located at 12.58° North, 77.35° East and elevated at 914 MSL. The studies were carried out at KSSR&DI and Department of Botany, Bangalore University.

Field grown mulberry plants were pruned during the middle of July and regular cultural operations were carried out (Rangaswamy et al., 1976). The leaves were inoculated on the 25th day after pruning

* Current address for correspondence: B.R. Dayakar Yadav, Central Silk Board, Bangalore 560 068, India.

(during middle of August) by spraying a spore suspension of 3×10^4 spores ml^{-1} on either leaf surface with an atomizer, and the inoculated shoots were covered by polyethyl bags for 96 hours under field conditions. The inoculated leaf samples were collected on 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12 and 14 days after inoculation. The samples collected were cut into 0.5 cm^2 pieces and placed in a vial containing Formaline Acetic Acid (FAA). Later they were dehydrated in an n-butanol series and embedded in paraffin wax; microtome sections were cut to $7 \mu\text{m}$ thickness using an Erma rotary microtome. The sections were hydrated and processed in n-Butanol series up to absolute alcohol and counterstained. The sections were mounted in Canada balsam and were observed under Lietz Laborlux-11 binocular microscope in 10×40 and 10×100 magnifications. At uninfected and infected regions of the leaf, the parameters viz. thickness of leaf; thickness of cuticle on upper epidermis; width and height of upper and the lower epidermal cells; width and height of palisade and spongy parenchyma cells; number of proteinoplastids in mesophyll cell were recorded.

Table I. Histopathological changes of epidermal and mesophyll cells.

Tableau I. Changements histopathologiques des cellules épidermiques et du mésophylle.

Parameters	Uninfected leaf region			Infected leaf region		
	Mean size	SD	CV%	Mean size	SD	CV%
	<i>Région de la feuille non infestée</i>			<i>Région de la feuille infestée</i>		
<i>Paramètres</i>	<i>Taille moyenne</i> μm	<i>SD</i>	<i>CV%</i>	<i>Taille moyenne</i> μm	<i>SD</i>	<i>CV%</i>
Leaf thickness <i>Épaisseur de la feuille</i>	126*	0.82	00.65	104	0.94	00.91
Epidermal cell / Cellule épidermique						
Upper <i>Supérieur</i>	b	32	1.41	36*	0.94	02.62
	h	20	1.33	24*	1.49	06.21
	c	06	0.47	01	0.52	36.86
Lower <i>Inférieur</i>	b	19	1.05	20*	0.94	04.71
	h	05	0.67	07*	0.94	13.47
MESOPHYLL TISSUE / TISSU MÉSOPHYLLE						
Parenchyma Cell / Cellule parenchymale						
Palisade / <i>Palissadique</i>	b	05	0.67	06*	0.67	11.10
	h	32	0.67	40*	1.25	03.12
Spongy / <i>Spongieux</i>	b	07	0.82	08*	0.82	10.20
	h	08	0.82	10*	0.67	06.66

b = Breadth / largeur, h = Height / hauteur, c = Cuticle thickness / épaisseur de la cuticule.

* = Significant / Significatif, SD = Standard Deviation / Écart-type

CV = Coefficient of variance / Coefficient de variation

Ten each of the palisade and spongy parenchyma cells were selected randomly for measuring width, height and counting the number of proteinoplastids. The width and height of each selected cell was measured in μm at the median section. Histopathological changes of epidermal and mesophyll cells are presented in tables I and II. The rust infection level on leaf (number of pustules per cm^2 leaf area) and infected leaf's position on the shootlet was compared with the age (duration) at which the rust infected leaf withered (Tab. III). The mean width, height, SD and CV of each of the measured parameter were calculated. The 't' value was calculated by using SD values of contrasting parameters and the calculated 't' value was used to test the significance by comparing with the 't' table value at 5 %.

RESULTS

Distinct histopathological changes occurred in rust infected mulberry leaf. As the disease progressed the intercellular mycelium invaded the palisade and spongy parenchyma cells and caused hypertrophy. The neighbouring cells around the infected cells with haustoria were shrunk and in later infection stage the cell wall of host begin to disintegrate. Due to this, even though hypertrophy with giant cell formation occurred, there was no increase in the thickness of mesophyll. Inside palisade and spongy cells, the haustoria enlarged and occupied most of the space in them.

As a consequence of penetration and establishment of pathogen in some of the host mesophyll cells and for pathogen's further inoculum production the nutrients were absorbed from their neighbouring uninfected host cells. This results in disruption and collapse of nutrient supplied cells. Hence, the thickness of infected leaf was reduced significantly (Table I). It was also observed that at the site of pathogen penetration into epidermal cells and in the hypha established palisade and spongy parenchyma cells, there was a significant increase in width and height of infected cells (Table I), with a reduction in thickness of cuticle on upper epidermis. The mean thickness of leaf and cuticle, mean width and height of uninfected and infected epidermal cell, palisade and spongy parenchyma cells with SD and CV are presented in Table I.

Table II. Change in number of proteinoplastids in infected mesophyll cell.

Tableau II. Variation du nombre de protéoplastes dans les cellules du mésophylle infestées.

Parameters	Uninfected cell			Infected cell		
	Mean number	SD	CV%	Mean number	SD	CV%
	<i>Cellule non infestée</i>			<i>Cellule infestée</i>		
<i>Paramètres</i>	<i>Nombre moyen</i>	<i>SD</i>	<i>% CV</i>	<i>Nombre moyen</i>	<i>SD</i>	<i>% CV</i>
Proteinoplastids <i>Protéoplastes</i>	10	1.41	14.14	2	0.67	33.3

SD = Standard Deviation / *Ecart-type*

CV = Coefficient of variance / *Coefficient de variation*

Table III. Correlation between rust infection level and rate of withering of leaves of mulberry.

Tableau III. Corrélation entre le niveau d'infestation par la rouille et le taux de blanchiment des feuilles de mûrier.

Infection level (number of pustules per cm ²)	Leaf position at the time of withering	Withering period in days
Niveau d'infestation (nombre de pustules par cm ²)	Position de la feuille au moment du blanchiment	Période de blanchiment en jours
70-90	12-13	35-38
60-70	13-14	38-40
50-60	14-15	42-45
30-50	15-16	46-48
15-25	16-17	48-50
Below 15 / Au-dessous de 15	17-19	50-52

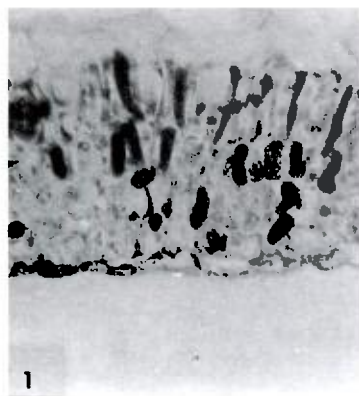


Figure 1. Infected mesophyll with hypertrophied cells and disorganising neighbour cells (X 400).

Figure 1. Mésophylle infesté avec cellules hypertrophiées et cellules voisines désorganisées (X 400).

Figure 2. Formation of uredinium towards lower epidermis with peridium (X 400).

Figure 2. Formation d'urédiniums vers l'épiderme inférieur avec péridium (X 400).

Figure 3. Severely infected mulberry plants showing defoliation.

Figure 3. Plants de mûriers sévèrement infestés montrant une défoliation.

Scale / Echelle :

1n x 400 — 18.2 mm = 60 µ

The reduction in number of plastids occurred in both palisade and spongy cells due to the infection (Tab. II). The infection was also observed in phloem parenchyma and companion cells. As the hyphae traversed below the palisade layer, the shape of hyphae was determined by the pressure exerted by neighbouring palisade and spongy cells. The hyphae colonised in both upper and lower epidermis were yellow to reddish brown in colour, due to phenolic substance produced by the pathogen in severely infected areas. Hence, the lesion appeared yellow to reddish brown.

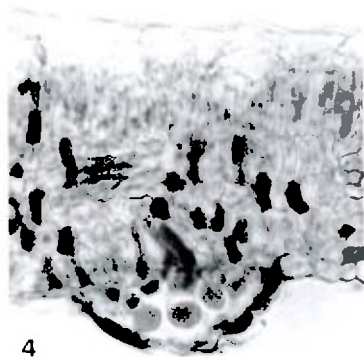
Sometimes, a portion of the host cell was destroyed, leaving the rest intact. The harmful effect of the fungus on host cells preceded the actual fungal invasion. Before the visual symptoms of the mulberry rust disease appeared, there was abundant mycelial growth extending several μm length from the infection site.

Physio-morphological changes in host mesophyll tissue due to establishment of hyphae.

The shape and mean width and height of mesophyll cells varied greatly due to invasion of rust pathogen (Table I). During the movement of cytoplasm from urediniospores of mulberry rust into appressorium through germ tube and formation of haustorium many small vacuoles were formed and these vacuoles merged to form one or two large vacuoles. The vacuole formation progressed with the further development of infection structures. The cytoplasmic migration was accompanied by subapical vacuolation. The vacuolate regions are lined by plasmalemma and the tonoplast, therefore, considerable membrane synthesis is required during this process and the cell has to regulate the concentration of solutes in the enlarging vacuole to maintain the necessary isotonicity between vacuole and adjacent cytoplasm. Such a process seems to require large investment of energy. The hyphal cell contents migrated into the haustorium by formation of vacuoles and embedding haustorium in host cell. The haustorium was intimately associated with the contents of host cell and was covered by the layer of host cytoplasm. During the early stage of establishment of the pathogen in mesophyll, the host cells gave the appearance of hyperfunctioning with enhanced metabolic activity resulting in hypertrophy (Fig. 1). It was also observed that when the infected leaf tissue was fixed in FAA, the uninfected cells of mesophyll in the infected cells appeared to be plasmolyzed, while the hypertrophied cells harbouring the pathogen remained without any change, thus indicating an altered chemical condition in the infected mesophyll cells of the host tissue which was induced by the fungus. The disrupted and collapsed cell's protoplast contracted into separate masses and plastids of collapsed cells appeared as indistinct masses. The disordered contents of the cells gave indication of severe infection.

Formation of uredinium and urediniospores

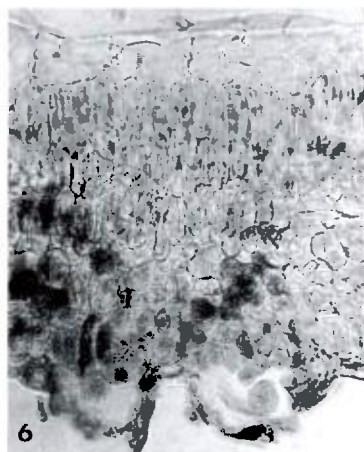
By 168 hours after inoculation by urediniospores in mulberry leaf, rust fungus colonised by mycelial growth and advancement followed by hyphal aggregation near substomatal cavity towards lower epidermis from which the uredinium developed. Initially the hyphal aggregation appeared as a mass of hyphae resembling parenchyma cells. The layers of hyphal structures which were woven into compact masses were formed towards the lower epidermis after 9th day of inoculation with a marked response in mesophyll cells. During the early stages i.e., 9th and 10th day after inoculation, the pustules appeared as pale yellow flecks on the adaxial surface of leaf. Grouping of uredinial structures were found around 10-11 days in the spongy mesophyll cells (Fig. 2). By 10th - 12th day, the pale yellow appearance of pustules became less pronounced and reddish brown colour started developing. Uredinia erupted during 13th - 14th day by rupturing the peridial wall. The spores found in urediniosorus were subsessile, oval to globular with very thick wall structures (Fig. 4). The lower epidermal cells were intact and turgid till they rupture due to pressure exerted by the spores. When there was large number of hyphae in leaf tissue, the pustules formed were minute with very few spores and this is based on the limitation of available nutrients. When the mycelia were scattered, the uredinium produced had many spores, i.e., 5-8 spores and rarely 12 spores. Angular brown patches appeared on the lower surface of leaves by wide spreading and eruption of uredinial peridium during



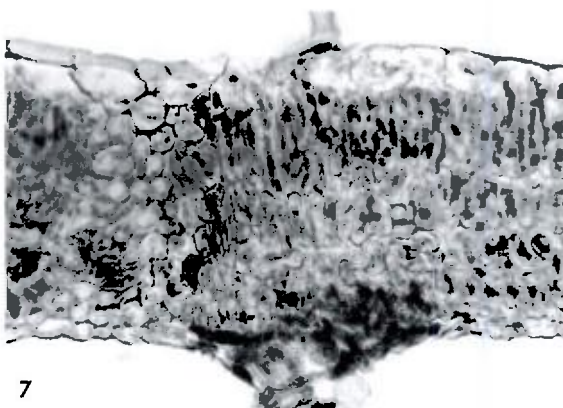
4



5



6



7

Figure 4. Well developed uredinium with urediniospores and peridium (X 400).

Figure 4. *Urédinium bien développé avec urédiniospores et péridium.*

Figure 5. Urediniospores in a uredinium with erupted peridium (X 400).

Figure 5. *Urédiniospores dans un urédinium avec sortie du péridium.*

Figure 6. Ramified mycelium radiating from infection point and formation of secondary pustule (X 400)

Figure 6. *Mycélium ramifié rayonnant à partir du point d'infestation et formation d'une pustule secondaire.*

Figure 7. Substomatal sorus (X 400).

Figure 7. *Sore sous stomatique.*

Scale / Echelle :

In $\times 400$ - 18.2 mm = 60 μ m

15th - 16th day (Fig. 5). After the pustule developed the mycelium spread radially. The extent of spread could be observed by discoloration of leaf. After the formation of primary pustule, sometimes the secondary pustules appeared at the margin of primary pustule (Fig. 6).

The uredinium formed in the spongy mesophyll erupted through the lower epidermis, the pustule measuring 90-120 μm in diameter and 27-30 μm in height and looking saucer shaped at the final stage exposing sporogenous tissue. Senescing uredinia were observed on 23-25 days old leaves. The opened uredinia liberated the urediniospores within 48-60 hours and new uredinia continued to develop up to 5th week. The potential of inoculum production in mulberry rust is appreciable. After the first formed urediniospores were well developed, the sorus still contained the spore forming initials in the centre indicating basipetal arrangement. The mycelial mat of mulberry rust is reddish brown, it radiated from original infection point and produced many sori as the hyphae reached lower epidermis. This resembled the second level of mycelial mat complexity. Sometimes, the mycelial mat of mulberry rust produced limited mycelium with a small substomatal sorus (Fig. 7). Under field conditions favouring infection and disease development, mulberry rust led to defoliation (Fig. 3) in plants.

The urediniospores production and liberation was influenced by humidity (Prasad, 1994). The passive liberation of spores began about 48 ± 12 hours after spore development. It was also observed that the infected leaf withered corresponding to the infection level irrespectively of early age of the leaf. The average longevity of a healthy leaf is 48 ± 3 days under well manured and irrigated conditions. The rate of withering of leaves increased with the infection level (Tab. III). More rapid withering of leaves were found during winter than in summer.

DISCUSSION

In rust infected mulberry leaf, the development of histo-morphological symptoms of reddish brown colour is correlated to the spreading of mycelium within the leaf and the production of phenolic substance from the Pathogen.

The hypersensitive reaction was observed in the infected mesophyll cells, as a visible response of host tissue to infection. Sometimes, the hypersensitive cells collapsed and the fungal structures assumed orange yellow colour.

The colonisation of mycelium in mulberry leaf rust resembles that of *Puccinia graminis* on *Zea mays* (Leath and Rowell, 1966). The growth of intracellular and transcellular hyphae was found in other rust species of temperate regions (Allen, 1930; Longo, Moriondo and Naldini Longo, 1982 and Gray, 1983). In the mulberry leaf infected by rust pathogen both inter-cellular and intra-cellular mycelium was found and it resulted in hypertrophic mesophyll cells. In cowpea rust, the infection hyphae and haustorial mother cells developed normally *in vitro*, but lacked outer wall layer which was present in early infections of host plant (Heath, 1990). Two features were likely to be shown by rusts which penetrate through the cuticle. Primarily the ability of infection may be restricted to younger parts of the plant and secondly the presence of sori on both the stomatal and nonstomatal surfaces suggested penetration through those same surfaces (Hunt, 1968). However, not all cuticularly penetrating rusts need show such discrete sori, since sporulation may be restricted to one or other surface of leaf. In *Ravenalia emblicae* whip-like haustoria were formed during sporulation and when the sori developed, the hyphae branched and filled the epidermal cells but the sori were subepidermal (Rajendran, 1972). However, irrespectively of penetration site by rust fungus in mulberry leaf the uredinia were developed only towards the lower surface of leaf. In the yellow rust infected wheat leaf, as long as the leaf remained, spores were produced, but the spores produced by a senescing leaf were of low viability (Gopalan and Mannars, 1984).

In rust infected mulberry leaf, the hypertrophied and turgid cells were found in the mesophyll with the disintegration of healthy mesophyll cells and their contents leading to the reduction of leaf

thickness. The development of uredinium enclosing urediniospores within the well developed peridial wall to the adaxial surface of leaf was observed, irrespective of the penetration area.

CONCLUSION

Mulberry foliage is sole food for silkworms. Rust disease of mulberry foliage is caused by *Peridiopsisora mori* and this biotroph reduces nutritive quality and quantity of mulberry leaves. The urediniospores are the only propagules involved in the spread of this disease. The urediniospore on germination produces germ tube and penetrate the leaf directly through cuticle of upper epidermis and also through stomata. The mycelium is both inter and intra-cellular. The penetration of germ tube through epidermal cell and establishment of hypha in palisade and spongy parenchyma cells result in significant increase of width and height of infected cells, leading to hypertrophy. The penetration and establishment of *P.mori* in mulberry foliage reduces the thickness of cuticle and leaf. The reduction in number of proteinoplastids of the infected cells were recorded. The uredinium with cellular peridium enclosing sessile, highly thick-walled urediniospores were produced towards lower epidermis irrespective of the site of penetration. Due to the higher infection level of rust on mulberry foliage, the premature defoliation occurred at an early age resulting in mulberry crop loss.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Director, Divisional Chief (Moriculture) and Scientific officer I (Plant protection) of Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore for facilities. We thank Professor Kameshvara Rao, Department of Botany, Bangalore University, Bangalore for facilities.

KVP thanks John Lacey and Maureen E. Lacey of Rothamsted experimental station, Harpenden, Herts, England for providing literature and valuable suggestions.

REFERENCES

- ALLEN R.F. (1930) A cytological study of heterothallism in *Puccinia graminis*. Journal Agricultural Research, 40: 585-614.
- GOPALAN R., MANNERS J.G. (1984) Environmental and other factors affecting germination of urediniospores in yellow rust of wheat. Transactions British Mycological Society, 82: 239-243.
- GRAY D.J. (1983) Ultrastructure of the infection and early colonization of *Pinus taeda* by *Cronartium quercum formae speciales fusiforme*. Mycologia 75: 117-130.
- HEATH M.C. (1990) *In vitro* formation of haustoria of cowpea rust fungus, *Uromyces vignae* in the absence of a living plant cell. II. Electron microscopy. Canadian Journal Botany, 68: 278-287.
- HUNT P. (1968) Cuticular penetration by germinating uredospores. Transactions British Mycological Society, 51: 103-112.
- LEATH K.T., ROWELL J.B. (1966) Histological study of the resistance of *Zea mays* to *Puccinia graminis*. Phytopathology, 56: 1305-1309.
- LONGO N.F., MORIONDO F., NALDINI LONGO B. (1982) Ultrastructural observations on the host-pathogen interface in infections of *Cronartium flaccidum* on pine. Caryologia, 35: 307-326.
- PRASAD K.V. (1994) Epidemiology of the rust disease of mulberry. Ph.D Thesis, Bangalore University, 1-106.
- PRASAD K.V., DAYAKAR YADAV B.R., SULLIA S.B. (1993) Taxonomic status of the rust on mulberry in India. Current Science, 65(5): 424-425.
- RAJENDRAN B. (1972) Evaluation of haustoria in tropical rust fungi. Bulletin Torrey Botanical Club, 99: 84-88.

RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.A.,
JOLLY S. (1976) Manual on Sericulture, Vol. I, Mulberry Cultivation, Food agriculture
organisation Rome.1-150.

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES ET HISTOPATHOLOGIQUES CHEZ LA FEUILLE DE MURIER INFESTÉE PAR LA ROUILLE

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA³

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

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus, Bangalore
560 056, Inde.

Peridiopsisora mori Barclay, (Prasad et coll., 1993), un biotrophe infestant les feuilles de mûriers (*Morus alba* L.) provoque des dommages importants d'août à février de chaque année. Les changements post-infectieux chez les feuilles de mûrier concernant une baisse marquée de l'épaisseur de la cuticule qui est précédée par une colonisation inter et intracellulaire de mycelia. On constate également une hypertrophie de certaines cellules palissadiques et des cellules du parenchyme spongieux. Les modifications histomorphologiques incluent une réduction du nombre de plastides et de l'épaisseur de la feuille. Autour et près de la cavité sous stomatique, le mycélium se regroupe pour former l'urédinie. L'urédinium avec des urédiniospores sessiles aux parois très épaisses se retrouve entouré par une paroi cellulaire péridiaie caractéristique du champignon.

INTRODUCTION

Le mûrier, (*Morus alba* L.) est cultivé pour son feuillage qui est la seule nourriture des vers à soie (*Bombyx mori* L.). Le mûrier s'épanouit bien dans un sol argileux avec une température optimale de 25°C, un pH de 6,5 à 7,3 et des pluies annuelles de 50 à 800 mm. Le mûrier est sensible à de nombreuses maladies dues aux champignons, parmi celles-ci, la tâche de la feuille, le mildiou et la rouille sont les plus importantes. La rouille est causée par *Peridiopsisora mori* Barclay (Prasad et coll., 1993) et montre une sévérité maximale en Inde, pendant les mois d'août à février de chaque année. Peu d'informations existent au sujet des modifications morphologiques, histopathologiques et physio-morphologiques qui accompagnent la formation d'urédiniospores et le délicat ajustement entre le champignon de la rouille et le tissu de la feuille de mûrier.

D'où, cette étude entreprise afin de se rendre compte des facteurs de modifications histopathologiques et la formation d'urédiniospores chez les feuilles de mûriers infestées par *P. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Les urédiniospores ont été récoltées à partir de feuilles infestées au KSSR&DI, Bangalore, situé à 12,58° Nord, 77,35° Est et à une altitude de 914 m. Les études ont été entreprises au KSSR&DI et au Département de Botanique, à l'Université de Bangalore.

Les plants de mûriers ont été taillés à la mi-juillet et les opérations régulières de culture ont été faites (Rangaswamy et coll., 1976). Les feuilles ont été inoculées au 25ème jours après la taille (mi-août) en vaporisant une suspension de spores à 3×10^4 spores ml⁻¹ sur chaque surface de la feuille avec un aérosol et les pousses inoculées ont été recouvertes de sacs de polyéthylène pendant 96 heures.

* Adresse de correspondance : B.R. Dayakar Yadav, Central Silk Board, Bangalore 560 068, Inde.

Les échantillons de feuilles inoculées ont été ramassées au 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12 et 14^{ème} jours après inoculation. Les échantillons collectés ont été coupés en carrés de 0,5 cm² puis placés dans une fiole contenant de l'acide acétique Formaline (AAF). Plus tard, ils ont été déshydratés par des passages sur du n-butanol et inclus dans de la paraffine. Les coupes de 7 µm d'épaisseur ont été réalisées avec un microtome Erma rotatif. Les coupes ont été hydratées, traitées dans des séries n-butanol montées dans du baume du Canada et observées avec un microscope Lietz Laborlux-11, aux grossissements 10 X 40 et 10 X 100. Sur les zones infestées et non infestées de la feuille, nous avons mesuré l'épaisseur de la feuille, l'épaisseur de la cuticule de l'épiderme supérieur, la largeur et la hauteur des cellules épidermiques supérieures et inférieures, la largeur et la hauteur des cellules palissadiques et des cellules du parenchyme spongieux et le nombre de protéoplastes dans les cellules du mésophylle.

Dix cellules de parenchyme palissadique et de parenchyme spongieux ont été choisies au hasard pour mesurer la largeur, la hauteur et le nombre de protéoplastes. La largeur et la hauteur de chaque cellule sélectionnée ont été mesurées en µm, au niveau de la coupe médiane. Les modifications histopathologiques des cellules épidermiques et des cellules du mésophylle sont présentées dans les tableaux I et II. Le niveau d'infestation de la rouille (nombre de pustules par cm²) et la position de la feuille infestée sur une pousse sont comparées avec l'âge (durée) auquel la feuille infestée par la rouille blanchit (Tableau III). La largeur, la hauteur, l'écart type et le coefficient de variation moyens de chacun des paramètres mesurés ont été calculés. La valeur 't' est calculée en utilisant les valeurs d'écart-type des paramètres et la valeur 't' calculée est utilisée afin de tester sa signification en la comparant au tableau de valeur 't' à 5 %.

RESULTATS

Des changements histopathologiques distincts apparaissent sur les feuilles de murier infestées par la rouille. Lorsque la maladie progresse, le mycélium intercellulaire envahit la palissade et les cellules du parenchyme lacuneux et provoque l'hypertrophie. Les cellules saines autour des cellules infestées sont comprimées et lors des derniers stades d'infestation, la cloison de la cellule de l'hôte commence à se désagréger. A cause de cela, même si l'hypertrophie d'une cellule géante apparaît, il n'y a pas d'augmentation de l'épaisseur du mésophylle. A l'intérieur des cellules palissadiques et spongieuses, les haustoriums grossissent et occupent la plus grande place.

En conséquence de la pénétration et de l'installation du pathogène chez certaines cellules du mésophylle hôtes et pour la production ultérieure d'inoculum du pathogène, les nutriments sont absorbés à partir des cellules avoisinantes non infestées.

Cela entraîne la rupture et la perte des nutriments pour les cellules. D'où, l'épaisseur des feuilles infestées est considérablement réduite (Tableau I). Nous avons aussi remarqué qu'à l'emplacement de la pénétration du pathogène dans les cellules épidermiques et dans les cellules palissadiques de l'hyphé et les cellules du parenchyme lacunaire, il y a une hausse significative de la largeur et la hauteur des cellules infestées (Tableau I), avec réduction de l'épaisseur de la cuticule sur l'épiderme supérieur. L'épaisseur moyenne de la feuille et de la cuticule, la largeur et la hauteur moyennes des cellules épidermiques infestées et non infestées, des cellules palissadiques et du parenchyme spongieux sont présentées dans le tableau I.

La réduction du nombre de plastes se produit aussi bien chez les cellules palissadiques que spongieux (tableau II). L'infestation se remarque aussi au niveau du parenchyme, du phloème et des cellules compagnes. Comme les hyphes traversent sous la couche palissadique, la forme des hyphes est déterminée par la pression exercée par les cellules palissadiques et spongieuses voisines. Les hyphes colonisées dans l'épiderme supérieur et inférieur sont de couleur jaune à brun rouge, à cause de la substance phénolique produite par le pathogène dans les zones fortement infestées. La lésion apparaît ainsi jaune à brun rouge.

Parfois, une partie de la cellule hôte est détruite laissant le reste intact. L'effet nocif du champignon sur les cellules hôtes précède la véritable invasion fongique. Avant qu'apparaissent les

symptômes visuels de la maladie de la rouille, il y a un abondant accroissement mycélien dépassant plusieurs μm de longueur à partir du point d'infestation.

Modifications physio-morphologiques du mésophylle hôte dû à l'établissement des hyphes fongiques.

La forme, la largeur et la hauteur moyennes des cellules du mésophylle varient énormément à cause de l'invasion du pathogène de la rouille (Tableau I). Lors du mouvement du cytoplasme à partir des urédiniospores de la rouille jusque dans l'appressorium à travers le tube germinatif et la formation des haustoriums, de nombreuses petites vacuoles se forment et se regroupent pour former une ou deux grosses vacuoles. La formation de vacuoles progresse avec le développement rapide des structures infectieuses. La migration cytoplasmique est accompagnée d'une vacuolisation subapicale. Les régions vacuolaires sont limitées par le plasmalème et le tonoplaste, une synthèse importante de membranes est donc nécessaire et la cellule doit réguler la concentration en solutés chez les vacuoles agrandies pour maintenir l'isotonie nécessaire entre vacuoles et cytoplasme adjacent. Un tel processus semble nécessiter un grand apport en énergie. Les contenus des cellules des hyphes migrent dans l'haustorium en formant des vacuoles et en renfermant l'haustorium chez la cellule hôte. L'haustorium est étroitement associé avec les contenus de la cellule hôte et elle est couverte par la couche du cytoplasme hôte. Pendant la première étape de l'établissement du pathogène dans le mésophylle, les cellules hôtes donnent l'apparence d'un hyperfonctionnement avec une activité métabolique accentuée résultant en une hypertrophie (figure 1). Nous avons aussi remarqué que lorsque le tissu de la feuille infestée est fixée au AAF, les cellules saines du mésophylle parmi les cellules infestées semblent être plasmolysées, tandis que les cellules hypertrophiées contenant le pathogène restent identiques, ce qui indique une altération chimique dans des cellules du mésophylle infestées du tissu hôte induite par le champignon. Les protoplastes des cellules brisées et détruites se concentrent en masses distinctes et les plastides des cellules détruites apparaissent en masses non distinctes. Les désordres observés dans les cellules donnent une indication sur la gravité de l'infestation.

Formation d'urédinium et d'urédiniospores

168 heures après inoculation des urédiniospores sur les feuilles de mûrier, le champignon de la rouille colonise par la croissance mycéliale et par l'agrégation hyphale près de la cavité substomatique vers l'épiderme inférieur à partir de laquelle l'urédinie se développe. Initialement, l'agrégation hyphale apparaît comme une masse d'hyphes ressemblant à des cellules parenchymateuses. Les couches de structures hyphales qui sont tissées en masses compactes sont formées vers l'épiderme inférieur après le neuvième jour d'inoculation avec une réponse marquée dans les cellules du mésophylle. Pendant les premières étapes, c'est à dire, les neuvième et dixième jours après inoculation, les pustules apparaissent sous forme de taches jaunes pâles sur la surface adaxiale de la feuille. Le groupement des structures urédiniales apparaît aux 10ème et 11ème jours dans les cellules du mésophylle vacuolaires (Figure 2). Aux 10ème et 12ème jours, l'apparence jaune pâle des pustules est moins prononcée et une couleur rouge brun commence à se développer. L'urédinie fait éruption lors des 13 et 14ème jours en brisant la cloison périodiale. Les spores trouvées dans l'urédiniospore sont subsessiles, de formes ovales à sphériques avec des parois très épaisses (figure 4). Les cellules épidermiques inférieures sont intactes et turgides jusqu'à ce qu'elles se brisent à cause de la pression exercée par les spores. Lorsqu'il y a un grand nombre d'hyphes dans le tissu de la feuille, les pustules formées sont minuscules avec peu de spores cela étant dû à la limitation en nutriments disponibles. Lorsque le mycélium est répandu, l'urédinium produit possède beaucoup de spores, 5 à 8 spores mais rarement 12. Des plaques angulaires brunes apparaissent sur la surface inférieure des feuilles par étalement rapide et éruption du périodum pendant le 15ème et 16ème jour (figure 5). Après le développement des pustules, le mycélium s'étend de façon radiaire. L'étendue de la propagation se

remarque par la décoloration de la feuille. Après la formation d'une pustule primaire, parfois, des pustules secondaires apparaissent à la bordure de la première pustule (figure 6).

L'urédinium formé dans le mésophylle spongieux traverse l'épiderme inférieur, la pustule mesurant 90-120 μm de diamètre et 27-30 μm de hauteur, ayant une forme ovale au stade final exposant un tissu sporogène. Des urédinies sénescents sont observées sur les feuilles âgées de 23 à 25 jours. Les urédinies ouvertes libèrent les urédiniospores dans les 48 à 60 heures et de nouvelles urédinies se développent jusqu'à la 5ème semaine. Le potentiel de production d'inoculum chez la rouille du murier est conséquent. Lorsque les premières urédiniospores sont bien développées, le sore contient encore les spores initiales au centre indiquant l'arrangement basipète. Le tapis mycélien de la rouille du murier est rouge brun, il irradie du point d'infestation d'origine et produit beaucoup de sores tandis que l'hyphes atteint les épidermes inférieurs. Cela ressemble au second niveau de complexité du tissu mycélien. Parfois, le tissu mycélien de la rouille du murier produit du mycélium de façon limitée avec un petit sore sous stomatique (figure 7). Dans les conditions de terrain qui favorisent l'infestation et le développement de la maladie, la rouille du murier mène à la défoliation des plants (figure 3).

La production d'urédiniospores et leur libération est influencée par l'humidité (Prasad, 1994). La libération passive des spores débute après environ 48 ± 12 heures après le développement des spores. Nous avons aussi remarqué que le blanchiment de la feuille infestée correspond au niveau d'infestation, sans lien avec la jeunesse de la feuille. La longévité d'une feuille saine est de 45 ± 3 jours dans des bonnes conditions d'irrigation et d'amendement. Le taux de blanchiment des feuilles augmente avec le niveau d'infestation (tableau III). Il s'avère que les feuilles blanchissent plus rapidement en hiver qu'en été.

DISCUSSION

Chez les feuilles de murier infestées par la rouille, le développement des symptômes histo-morphologiques de couleur brun rouge est en corrélation avec la propagation de mycélium à l'intérieur de la feuille et la production de substance phénolique du pathogène.

La réaction hypersensible est observée dans les cellules du mésophylle infestées, comme une réponse visible du tissu hôte à l'infestation. Parfois, les cellules hypersensibles sont détruites et les structures fongiques prennent une couleur jaune orange. La colonisation par le mycélium de la rouille des feuilles de murier ressemble à celle de *Puccinia graminis* sur *Zea mays* (Leath et Rowell, 1966). La croissance d'hyphes intracellulaires et transcellulaires a été remarquée sur d'autres espèces de rouille des régions tempérées (Allen, 1930; Longo, Moriondo et Naldini Longo, 1982 et Gray, 1983). Pour les feuilles de murier infestées par le pathogène de la rouille, le mycélium est à la fois inter-cellulaire et intra-cellulaire et il en résulte des cellules du mésophylle hypertrophiées. En ce qui concerne la rouille du pois, l'hyphes et les cellules mères d'haustoriums se développent normalement *in vitro*, mais il manque parfois la paroi extérieure qui est présente dans les premières étapes d'infestation de la plante hôte (Heath, 1990). Deux traits sont à noter concernant les rouilles qui pénètrent à travers la cuticule, en premier lieu, la capacité d'infestation peut être confinée aux parties les plus jeunes de la plante et, en second lieu, la présence de sores sur les surfaces stomatiques et non stomatiques suggérant une pénétration à travers ces mêmes surfaces (Hunt, 1968). Cependant, toutes les rouilles pénétrant par la cuticule ne montrent pas des sores si nettes, car la sporulation peut être confinée à l'une ou l'autre surface de la feuille. Chez *Ravenalia emblicae*, des ares de types haustoriums se forment pendant la sporulation et lorsque les sores se développent, les hyphes se ramifient et remplissent les cellules épidermiques mais les sores sont sub-épidermiques (Rajendra, 1972). Cependant, indifférente au point de pénétration du champignon de la rouille, l'urédinie se développe seulement sur la surface inférieure de la feuille. Pour la rouille jaune infestant les feuilles de blé, aussi longtemps que la feuille ne tombe pas, les spores sont produites, mais les spores produites par une vieille feuille ont une faible viabilité (Gopalan et Manners, 1984).

En ce qui concerne les feuilles de mûrier infestées, les cellules hypertrophiques et turgides apparaissent sur le mésophylle avec la désintégration des cellules mésophylles saines et leurs contenus mènent à une réduction de l'épaisseur de la feuille. Le développement de l'urédinie renfermant les urédiniospores à l'intérieur de la paroi périldiale bien développée jusqu'à la surface adaxiale de la feuille, intervient quelle que soit la zone de pénétration.

CONCLUSION

Le feuillage du mûrier est la seule nourriture des vers à soie. La maladie de la rouille sur le feuillage du mûrier est due à *Peridiopsora mori* et ce biotrophe réduit la qualité nutritive et la quantité des feuilles de mûrier. Les urédiniospores sont les seuls éléments impliqués dans la propagation de la maladie. L'urédiniospore en germination produit un tube germinatif et pénètre dans la feuille directement par la cuticule de l'épiderme supérieur mais aussi à travers le stomate. Le mycélium est inter et intra-cellulaire. La pénétration du tube germinatif par l'épiderme de la cellule et l'établissement de l'hyphé dans le tissu palissadique et les cellules du parenchyme spongieux entraînent une augmentation significative de la largeur et de la hauteur des cellules infestées, menant à l'hypertrophie. La pénétration et l'établissement de *P. mori* dans le feuillage du mûrier réduit l'épaisseur de la cuticule et de la feuille. On observe une réduction du nombre de protéoplastes des cellules infestées. L'urédinium avec périldium cellulaire renfermant des urédiniospores subsessiles aux parois épaisses est produit vers l'épiderme inférieur quel que soit le point de pénétration. A cause du haut degré d'infestation du feuillage du mûrier par la rouille, la défoliation prématurée se fait tôt ce qui résulte en une perte de récolte de feuilles de mûrier.

PENETRATION AND ESTABLISHMENT OF *PERIDIOPSORA MORI* IN MULBERRY LEAF

K.V.PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA^{3**}

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

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus, Bangalore
560 056, India.

Peridiopsora mori (Barclay) Prasad et al., is a biotroph infecting leaves of mulberry (*Morus alba* L.) inflicting severe damage during August to February every year. The uredinium of the rust becomes surrounded by a cellular peridial wall which is the characteristic feature of the fungus. The urediniospore germinates, producing a germ tube, appressorium and infection papilla which enters the leaf from either surface. Post-infectional changes in leaves progress by colonising of mycelia both inter and intracellularly and reduce the nutritive value of mulberry leaves to silkworms.

Keywords : Establishment, host-pathogen interaction, mulberry, penetration, rust

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus alba* L.) is cultivated for its foliage which forms the sole feed of silkworms (*Bombyx mori* L.). Mulberry is susceptible to many diseases caused by fungi, of which leaf spot, powdery mildew and leaf rust are most important. Leaf rust is caused by *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et al. (Prasad et al., 1993) and shows maximum severity during August to February each year. Urediniospores are the only propagules involved in the spread of mulberry rust disease and are enclosed in the uredinium having cellular peridium. The urediniospores of mulberry rust differ from those of other rusts in morphology. The urediniospores are sessile to subsessile, oval to pyriform, with very thick wall having echinulate to verrucose ornamentation. The urediniospores possess four equatorial germ pores.

Fungal pathogens invade host cells with a variety of specialised infection structures. During germination the germ tube ends with appressorium. The appressorium produces outgrowths which invade the host by resisting the adverse conditions. As a general rule, the rusts invade the host tissue through stomata (Wynn, 1976) even though, direct penetration of rust fungi through cuticle has been reported (Hunt, 1968). Certain phylloplane fungi and rust fungi have grown over anticlinal walls of epidermal cells (Gold and Mendgen, 1984) indicating direct penetration.

The characteristic sequence of structures formed during infection through host stomata has been documented in cowpea rust uredospores (Heath and Heath, 1978). Detailed *in vivo* studies have shown that each rust species has a characteristic infection structure morphology (Littlefield and Heath, 1979).

The rust germ tubes respond to chemical stimuli, orientation of epidermal cells, cuticular ridges and patterns of epicuticular wax, which guide them in the general direction of stomata (Staples and

* Current address: Central Silk Board, Bangalore - 560 068, India.

** Address for correspondence.

Macko, 1980; Pring, 1980). Initiation of appressoria and penetration may be affected by the shape of the guard cells (Wynn, 1976) or by carbon dioxide levels in the substomatal cavity (Yirgou and Cladwell, 1968).

Success of fungal infection, especially of a biotroph, depends on the successful establishment of haustoria which continuously tap host nutrients without killing host cells. Review of literature shows lack of information on the ectophytic phase, establishment of endophytic phase and the factors that determine the balance between the rust fungus and mulberry leaf tissue. Therefore, investigation was carried out on the mode of infection and establishment of the rust fungus *P. mori* in mulberry leaf. This investigation helps in understanding the interaction between host (*M. alba*) and pathogen (*P. mori*).

MATERIALS AND METHODS

The studies were carried out at KSSR & DI, Department of Botany, Bangalore University and Deepak laboratories and diagnostics, Bangalore. The urediniospores were harvested from rust infected leaves of mulberry.

Field grown mulberry plants were pruned during the middle of July and regular cultural operations were carried out (Rangaswami *et al.*, 1976). The leaves were inoculated 25 days after pruning (during the middle of August) by spraying spore suspension with 3×10^4 spores per ml on either surface of leaves with an atomizer and the inoculated shoots were covered with polythene bags for 96 hours under field conditions. The inoculated leaf samples were collected at 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 and 48 hours. Inoculated leaf samples were collected on 3, 4, 5, 6 and 7 days after inoculation. The samples collected were cut into 0.5 cm^2 bits, placed in vial and fixed in FAA. Permanent slides were prepared by following standard procedures for embedding in paraffin, sectioning and counterstaining. The sections of $7 \mu\text{m}$ thickness were observed under Leitz Laboulux - 11 binocular microscope in 10×40 and $10 \times 100 \times$ magnifications.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Mechanism of penetration

The spore germinated by producing a germ tube and elongation of the tube ceased at 12-150 μm length by differentiation of slightly swollen, thin walled, globose to ellipsoidal appressorium into which cytoplasm migrated. Later a septum separated the germ tube from the appressorium and from it, a penetration peg developed. The appressorium, substomatal vesicle and haustorial mother cell developed with the enlargement of vacuoles. The infection hypha developing from rust urediniospore penetrated through the cuticle of upper epidermis or through lower epidermis (Figs. 1, 2) and through stomata (Figs. 3, 4), of leaves aged 10-17 days, i.e., 4-7th leaf position from the shoot apex. Usually, a short hypha from the appressorium penetrated between the guard cells and sometimes enlarged as a substomatal vesicle, from which further infection hyphae grew out. Rarely stomatal penetration without appressorium formation was observed (Fig. 4). The appressorium was almost as large as an epidermal cell and thus a portion of its surface adheres to the cuticle. During direct penetration from the point of the contacting surface, a narrow, slender infection papilla penetrated the epidermal cell through the cuticle. On the cuticle, an opening with a small brown spot surrounded by a characteristic dark zone appeared (Fig. 5). Rarely, the infection papilla grew between the two epidermal cells. As it traversed to the depth of the epidermal cell, the infection hypha enlarged (Fig. 6). Usually, the infection hypha continued to grow deeper into the host tissue towards the vascular bundles. The orientation of the germ tube towards a stoma is crucial for stomatal penetration (Figs. 3, 4). As penetration took place near a stoma, the infection hypha grew paradermally between the epidermis and underlying mesophyll cells. During the course of penetration and establishment, a pale orange

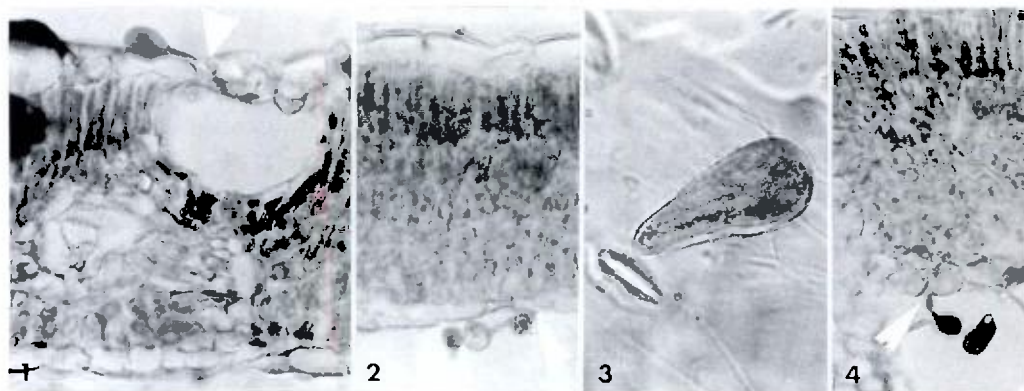


Figure 1. Germ tube penetrating through the upper epidermis (X 400).

Figure 1. Tube germinatif pénétrant l'épiderme supérieur (X 400).

Figure 2. Infection papilla penetrating through the lower epidermis (X 400).

Figure 2. Papille d'infection pénétrant à travers l'épiderme inférieur (X 400).

Figure 3. Orientation of the urediniospore towards stoma (X 1 000).

Figure 3. Orientation de l'urédiniospore vers les stomates (X 1 000).

Figure 4. Germ tube penetrating through the stomata without appressorium formation (X 400).

Figure 4. Tube germinatif pénétrant à travers les stomates sans formation d'appressorium (X 400).

Scale / Echelle : $\times 400 - 18.2 \text{ mm} = 60 \mu\text{m}$.

$\times 1\,000 - 22.6 \text{ mm} = 30 \mu\text{m}$.

pigmented content was found in the infection hypha. The haustorium formation occurred within 72 hours of incubation.

On few occasions, the urediniopores produced a very short germ tube, with the formation of an appressorium-like structure at its tip which could be referred to as a vesicle (Figs. 7, 8). These are not typical appressoria because they are borne on an abnormally short germ tube and sometimes even without a germ tube and they are thin walled and are larger in size.

The urediniospore germ tube became oriented almost perpendicular to the venation of the leaf, indicating the spore response to mulberry leachates. The exudate formed around the germ tube of the germinated urediniospore serves to attach the germ tube to the substratum (Fig. 9). Sometimes multiple appressoria were produced before penetration by a germinating urediniospore.

Establishment of hyphae in the mesophyll

After successful penetration and formation of a vesicle in an epidermal cell, irregular fingerlike processes emerged from a primary lobe. The underlying two to three mesophyll cells, below the penetration point were first infected by the growing hyphae (Fig. 10). From these cells hyphae spread

penetration point were first infected by the growing hyphae (Fig. 10). From these cells hyphae spread downward towards the vascular tissue growing through the intercellular spaces. Between 48-72 hours, the hyphae became slightly swollen and a fine fingerlike process could be seen penetrating the adjacent cell (Fig. 11). Thus, the rust fungus begins to establish itself in other mesophyll cells of the leaf within 96 hours after inoculation (Fig. 12) and mycelium spreads in all directions by 120 hours. The hyphae appeared to be intercellular in the early infection stages, but in mature sporulating lesions, the mycelium remains intra and inter-cellular. The hyphae grew inter and intra-cellularly in almost a straight line as the arrangement of host tissue would permit (Fig. 13). As the infection progressed, the mycelium invaded the palisade and spongy parenchyma cells, the plastids become irregular, more often clumped and pale, leaving a homogeneous uniformly unstained mass.

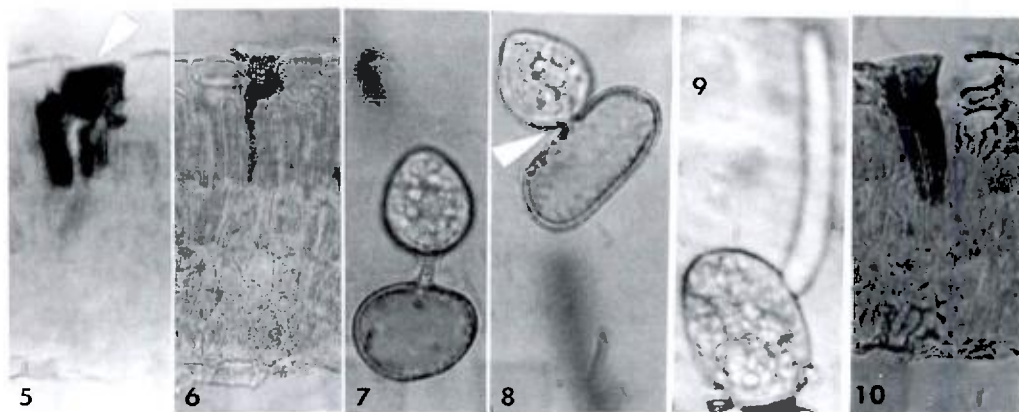


Figure 5. Penetrated zone of epidermis with a brown spot surrounded by dark zone at margin (X 400).
 Figure 5. Zone de l'épiderme pénétrée avec une tâche brune entourée par une zone noire (X 400).

Figure 6. Inter and intra-cellular mycelium in palisade parenchyma (X 1 000).
 Figure 6. Mycelium inter et intracellulaire dans le parenchyme palissadique (X 1000).

Figure 7. Germinated urediniospore with a vesicle-like structure on short germ tube (X 1 000).
 Figure 7. Urédiniospore germée avec une structure vésiculaire sur un tube germinatif court (X 1 000).

Figure 8. Germinated urediniospore with a vesicle-like structure without germ tube (X 1 000).
 Figure 8. Urédiniospore germée avec une structure vésiculaire sans tube germinatif (X 1 000).

Figure 9. Exudate surrounding the germ tube for attachment to the host surface (X 1 000).
 Figure 9. Exsudat entourant le tube germinatif pour s'attacher à la surface de l'hôte (X 1 000).

Figure 10. Hypha becoming enlarged in upper epidermal cell and establishing in palisade parenchyma cells (X 400).
 Figure 10. Hyphes s'élargissant dans la cellule épidermique supérieure et s'établissant dans les cellules du parenchyme palissadique (X 400).

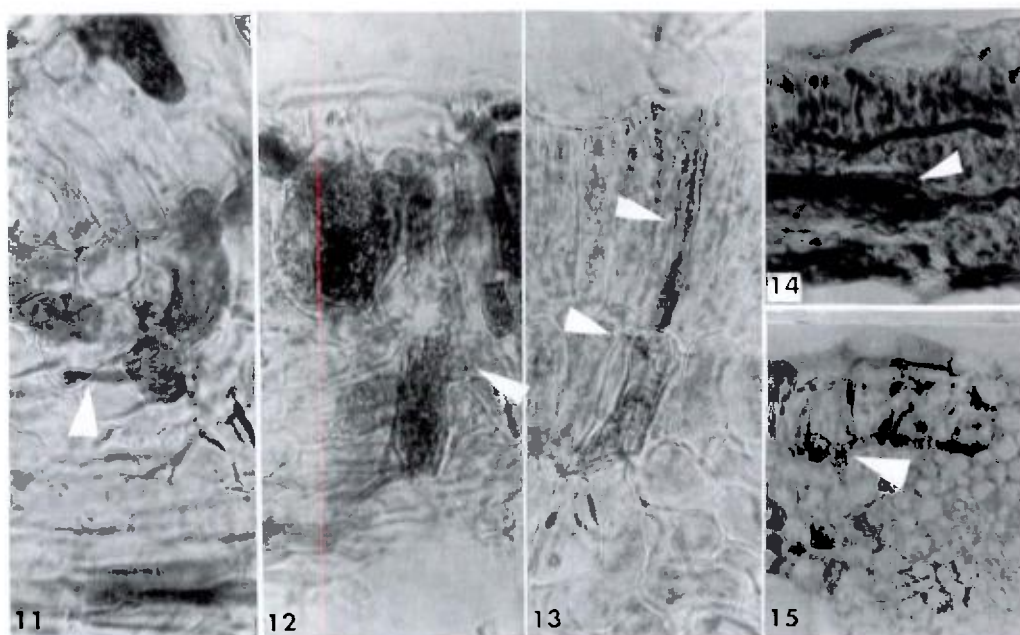


Figure 11. Haustorium entering adjacent host cell through a circular pore (X 1 000).

Figure 11. Haustorium entrant dans la cellule hôte adjacente à travers un pore circulaire (X 1 000).

Figure 12. Growth of hypha in mesophyll and in the lower epidermis (X 400).

Figure 12. Croissance d'une hyphe dans le mésophylle et dans l'épiderme inférieur (X 400).

Figure 13. Hyphae growing inter and intra-cellularly in almost a straight line (X 1 000).

Figure 13. Hyphes en croissance inter et intra-cellulaire en ligne presque droite (X 1 000).

Figure 14. Unimpeded hypha forming a slender runner (X 400).

Figure 14. Hyphes libres formant un passage fin (X 400).

Figure 15. Hyphal tip touching host cell and becoming wedged into an angle.

Figure 15. Extrémité hyphale touchant la cellule hôte et s'enfonçant en formant un angle.

The lateral spread of hyphae between the spongy mesophyll cells and vertical spread between the palisade cells was observed in rust infected mulberry leaf. As the hyphae became established in the mesophyll, the older hyphae at the zone of penetration became empty of cytoplasm. The hyphae appeared irregular in shape due to being adpressed by the cell walls of the mesophyll. The hyphae when unimpeded formed long slender 'runners' (Fig. 14). The smooth surfaces of the cells covering the vascular bundle form a favourable place for the spreading of hyphae, these hyphae run lengthwise along the cells for considerable distances. The tip of a runner was slender, tapering and with dense cytoplasm. When the growing hyphal tip touched a host cell wall it became wedged into an angle between two or more cells and grew into a 'blind alley' in the intercellular spaces of leaf mesophyll (Fig. 15). It produced haustoria also. The haustorium-producing cell had a broad surface contact with

the host cell and its contents became very dense. When the haustorium of the fungus penetrated, a minute circular pore was formed in the host cell wall probably due to enzymes secreted by the fungus (Fig. 11). The extension of the fungus cell into the host was accompanied by a corresponding invagination of the host protoplast. The parasitic mycelium grows into the cell resulting intracellular condition from intercellular as the colonisation of pathogen progresses.

In mulberry, the change in available carbohydrate is important for the development of infection structures and colonisation (Prasad, 1994). The bushy nature of mulberry coupled with closer spacing maintains adequate humidity within the canopy. The humidity influences the formation of a thin cuticle and helps the invasion of germinating urediniospores.

The plants grown in humid environment have the leaves with thin cuticle (Heather, 1967), and leaching occurs from them quickly. The phytopathogens degrade surface wax or part of cuticle on leaves, facilitating the penetration of infection structures produced by pathogen spores (Blakemen, 1973). The microbial population on the mulberry leaf increased with age and influences the degradation of surface wax (Prasad and Sukumar, 1991). The uredospores of *Uromyces*, *Puccinia* and *Melampsora* germinated and grew towards stomata and developed appressoria directly over stomatal openings (Lewis and Day, 1972). Sometimes, stomatal penetration without appressorium formation was observed in mulberry rust. Urediniospores of mulberry rust could germinate and penetrate on either surface of the leaf. Direct penetration from the cuticle through the upper epidermis and spreading of infection from epidermal cell to palisade and then further down occurs in the mulberry leaf. Copious amount of mucilaginous exudate was formed around the germ tube and appressoria of mulberry rust urediniospores. Direct penetration of rusts has been observed in *Phakopsora pachyrhizae*, the soybean rust pathogen (Barclay, 1890) and *Puccinia psidii*, the rose apple rust pathogen (Hunt, 1968). Appressoria of *P. pachyrhizae* developed over anticlinal walls or on the center of the epidermal cells, but rarely through stomata. The phenomenon of penetration through the cuticle was reasonably common (Hunt, 1968).

Urediniospores of mulberry rust germinated and formed infection structures in various nutrient solutions at $\text{pH } 6.7 \pm 0.2$ under *in vitro* conditions (Prasad, 1994). Sometimes, the contents of mulberry rust urediniospores and germ tube moved into a vesicle. Similar abnormal structures have been observed on uredospore germ tubes of *Puccinia graminis* (Plowright, 1889) *P. iridis*, *P. fagopyri* (Barclay, 1890). In all cases, spore germination was studied on water. The exact behaviour on leaves was not studied.

During August to February, the prevalence of dewy nights, cool temperature and moderate wind velocity promotes infection of mulberry rust (Prasad, 1994). Night temperature is an important component in the forecasting model. Six to nine hours of moisture is the minimum required for infection and longer moisture periods increase the level of infection.

The water droplets deposited on leaf due to dew/fog influenced the urediniospore germination, formation of infection structures and penetration of leaf by mulberry rust. The infection structures are developed in a temperature range of $20\text{--}22^\circ\text{C}$ and $83 \pm 8\%$ relative humidity. The presence of hexoses in solution promoted the development of infection structures *in vitro* (Prasad, 1994). The minimum and maximum temperatures for infection under diurnal conditions appear to be 18 and 28°C in mulberry rust. The germination of uredospores of *Puccinia graminis* occurs below 23°C and the penetration phase of the infection to a maximum at 29°C (Sharp *et al.*, 1958). Reduction of penetration at higher temperature was observed in *Puccinia coronata* (Heagle and Moore, 1970).

In nature, windborne urediniospores of mulberry rust fall in greater numbers on the upper surface of leaf than the lower and most of the spores penetrate the leaf on the upper surface through the cuticle. In mulberry rust, a series of events are involved in disease development, from the time of penetration and establishment of hypha, which are of compatible rust-host interactions.

CONCLUSIONS

Peridiopsora mori Barclay (Prasad *et al.*, 1993) is a biotroph on the foliage of *Morus alba* L., causing severe damage during August to February every year. The pathogen exists in anamorphic state. Urediniospores are the only propagules involved in the spreading of this disease. The urediniospore germinates, producing a germ tube, appressorium and infection papilla. The penetration of the rust fungus occurs directly on either surface of the leaf and through stomata. The branching of hyphae is apparent in the areas of spongy mesophyll. The lateral spread of hyphae occurs between the spongy parenchyma cells and vertical spread between the palisade cells of rust-infected mulberry leaf. The development of vesicular haustoria into a hyphoid structure occurs by the growth of the mycelium in the host cell resulting in intracellular condition from intercellular as the colonisation of pathogen progresses.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Director, Divisional Chief (Moriculture) and Scientific Officer I (Plant protection) of Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore for facilities. We thank Prof. C. Kameswara Rao, Department of Botany, Bangalore University and Dr. Y.A. Manjunath, Deepak laboratories & diagnostics, Bangalore for facilities.

KVP thanks John Lacey and Maureen E. Lacey of Rothamsted experimental station, Harpenden, Herts, England for providing literature and valuable suggestions.

REFERENCES

- BARCLAY A. (1890) A descriptive list of the Uredineae occurring in the neighbourhood of Simla (Western Himalayas). PT. III. J. Asiatic Soc. Bengal. 59, 75-112.
- BLAKEMAN P.J. (1973) The chemical environment of leaf surfaces with special reference to spore germination of pathogenic fungi. Pesticide Science. 4, 575-588.
- GOLD R.E., MENDGEN K. (1984) Cytology of spore germination, penetration and early colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*. Can. J. Bot., 62, 1989-2002.
- HEAGLE A.S., MOORE M.B. (1970) Some effects of moderate adult plant resistance to crown rust of oats. Phytopathology. 60, 461-466.
- HEATH M.C., HEATH I.B. (1978) Structural studies of the development of infection structures of cowpea rust *Uromyces phaseoli* var. *vignae*. I. Nucleoli and Nuclei. Can. J. Bot., 56, 648-661.
- HEATHER W.A. (1967) Leaf characteristics of *Eucalyptus bicostata* Maiden, seedlings affecting the deposition and germination of spores of *Phaeoseptoria eucalyptii* (Hansf.) Walker. Aust. J. Biol. Sci., 20, 1155.
- HUNT P. (1968) Cuticular penetration by germinating uredospores. Trans. Brit. Mycol. Soc., 51, 103-112.
- LEWIS B.G., DAY J.R. (1972) Behaviour of uredospore germ tubes of *Puccinia graminis tritici* in relation to the fine structure of wheat leaf surfaces. Trans. Br. Mycol. Soc., 58, 139-145.
- LITTLEFIELD L.J., HEATH M.C. (1979) Ultra structure of rust fungi. Academic Press. New York. 1-227.
- PLOWRIGHT C.B. (1889) A monograph of the British Urediniac and Ustilagineae. K. Paul Trench and Co., London. 1-347.
- PRASAD K.V. (1994) Epidemiology of the rust disease of mulberry. Ph D thesis. Bangalore University. Bangalore, India 1-106.
- PRASAD K.V., DAYAKAR YADAV B.R., SULLIA S.B. (1993) Taxonomic status of rust on mulberry in India. Current Science. 65(5), 424-425.

- PRASAD K.V., SUKUMAR J. (1991) Microbial population on mulberry leaves under prolonged storage. Abstract, International workshop on Biodetermination, culture collections and applied aspects of Mycology.
- PRING R.J. (1980) A fine structural study of the infection of leaves of *Phaseolus vulgaris* by uredospores of *Uromyces phaseoli*. *Physiol. Plant Pathol.*, 17, 269-276.
- RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.A., JOLLY S. (1976) *Manual on Sericulture Vol. I. Mulberry Cultivation*, Food agriculture organisation, Rome. 1-150.
- SHARP E.L., SCHMITT C.G., STANLAY J.M., KINGSOLVER C.H. (1958) Some critical factors in establishment of *Puccinia graminis* var *tritici*. *Phytopathology*, 48, 469-474.
- STAPLES R.C., MACKO V. (1980) Formation of infection structures as a recognition response in fungi. *Experimental Mycology*, 4, 2-16.
- WYNN W.K. (1976) Appressorium formation over stomates by bean rust fungus. Response to a surface contact stimulus. *Phytopathology*, 66, 136-146.
- YIRGOU D., CLADWELL R.M. (1968) Stomatal penetration of wheat seedlings by stem and leaf rusts in relation to effects of carbondioxide, light and stomatal apperture. *Phytopathology*, 58, 500-507.

PENETRATION ET ETABLISSEMENT DE *PERIDIOPSORA MORI* DANS LA FEUILLE DE MURIER

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV^{2*} & S.B. SULLIA^{3**}

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

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus, Bangalore 560 062, Inde.

Peridiopsora mori Barclay (Prasad et coll. 1993), est un biotrophe infestant les feuilles de mûrier (*Morus alba* L.) qui provoque des dommages importants d'août à février de chaque année. L'urédinium de la rouille est entouré d'une paroi cellulaire périodienne qui est caractéristique du champignon. L'urédiniospore germe, produisant un tube germinatif, un appressorium et une papille qui pénètre par l'une des surfaces de la feuille. Les changements post-infectieux évoluent avec la colonisation par le mycélium aussi bien inter qu'intra-cellulaire et réduisent la valeur nutritive des feuilles de mûrier.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus alba* L.) est cultivé pour son feuillage qui est l'unique nourriture des vers à soie (*Bombyx mori* L.). Le mûrier est sensible à de nombreuses maladies causées par les champignons, parmi lesquelles la cloque de la feuille, le mildiou et la rouille sont les plus importantes. La rouille est causée par *Peridiopsora mori* Barclay, (Prasad et coll., 1993) qui est très dommageable chaque année d'août à février. Les urédiniospores sont les seuls éléments impliqués dans la propagation de la maladie de la rouille et sont enfermés dans l'urédinium possédant un périodum cellulaire. Les urédiniospores de la rouille du mûrier diffèrent des autres rouilles par leur morphologie. Les urédiniospores sont sessiles et subsessiles, de formes ovales à piriformes avec une paroi très épaisse à ornements échinulés à verruqueux. Les urédiniospores possèdent quatre pores germinatifs équatoriaux.

Les pathogènes fongiques envahissent les cellules hôtes grâce à des structures d'infestation spécialisées. Pendant la germination, les tubes germinatifs se terminent par un appressorium. L'appressorium produit des excroissances qui envahissent l'hôte en résistant aux conditions hostiles. En règle générale, les rouilles envahissent les tissus hôtes par les stomates (Wynn, 1976) même si la pénétration directe de la rouille à travers la cuticule a été observée (Hunt, 1968). Certains champignons phylloplanes ainsi que des champignons de la rouille poussent par dessus les parois anticlinales des cellules épidermiques (Gold et Mendgen, 1984) ce qui correspond à une pénétration directe.

La séquence caractéristique des structures formées pendant l'infestation à travers le stomate de l'hôte a été décrite dans le cas des urédospores de la rouille du pois (Heath et Heath, 1978). Des études détaillées *in vivo* ont montrées que chaque espèce de rouille possède une structure morphologique d'infestation caractéristique (Littlefield et Heath, 1979).

* Adresse actuelle : Central Silk Board, Bangalore-560 068, Inde.

** Adresse de correspondance.

Les tubes germinatifs de la rouille répondent aux stimuli chimiques, à l'orientation des cellules épidermiques, aux arêtes cuticulaires et aux différents types de cires épicuticulaires qui les guident vers les stomates (Staples et Macko, 1980 ; Pring, 1980). L'initiation des appressoriums et la pénétration peuvent être affectées par la forme des cellules de garde (Wynn, 1976) ou par les niveaux de dioxyde de carbone dans la cavité sous-stomatique (Yirgou et Cladwell, 1968).

Le succès de l'infestation fongique, spécialement celle d'un biotrophe, dépend de l'installation des haustoriums qui utilisent continuellement les nutriments de l'hôte sans détruire les cellules hôtes. Peu d'informations existent concernant la phase ectophyte, l'établissement de la phase endophyte et les facteurs qui déterminent l'équilibre entre la rouille fongique et le tissu foliaire du mûrier. Cette étude sur l'infestation et l'établissement de la rouille fongique *P. mori* chez les feuilles de mûrier a donc été entreprise. Cette étude aide à comprendre l'interaction entre l'hôte (*M. alba*) et le pathogène (*P. mori*).

MATERIELS ET METHODES

Les études ont été réalisées au KSSR & DI au Département de Botanique de l'Université de Bangalore et aux 'laboratoires et diagnostics Deepak', Bangalore. Les urédiniospores ont été récoltées sur des feuilles de mûriers infestées. Les plants de mûriers ont été taillés à la mi-juillet et les opérations de culture habituelles ont été menées (Rangaswami et coll., 1976). Les feuilles ont été inoculées 25 jours après la taille (mi-août) en pulvérisant une suspension de 3×10^4 spores par ml sur chaque surface de la feuille avec un vaporisateur et les branches inoculées ont été enveloppées avec des sacs de polyéthylène pendant 96 heures. Les échantillons de feuilles inoculées ont été ramassés après 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, et 48 heures. Les échantillons de feuilles inoculées ont été ramassés 3, 4, 5, 6, et 7 jours après inoculation. Les échantillons collectés sont coupés en carrés de 0.5 cm^2 , placés dans des fioles et fixés au Formol-Acide acétique (FAA). Des lames sont préparées en suivant les procédures habituelles pour inclure dans la paraffine, sectionner et colorer. Les coupes de $7 \mu\text{m}$ d'épaisseur sont observées avec un microscope Leitz Laboulux aux grossissements 10×40 et 100×100 .

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Mécanisme de pénétration

La spore germe en produisant un tube germinatif long de $12-150 \mu\text{m}$ qui se termine par un appressorium légèrement enflé, aux parois fines, globuleux à ellipsoïdal dans lequel le cytoplasme migre. Plus tard, un septum sépare le tube germinatif de l'appressorium à partir duquel un ergot se développe. L'appressorium, la vésicule sous stomatique et la cellule-mère de l'haustorium se développent avec l'élargissement des vacuoles. L'hyphe fongique développée à partir de l'urédiniospore de la rouille pénètre à travers la cuticule de l'épiderme supérieur ou inférieur (Figs. 1, 2) et à travers le stomate (Figs. 3, 4) des feuilles âgées de 10-17 jours, (4-7ème feuille à partir de l'apex de la branche). Habituellement, une hyphe courte de l'appressorium pénètre entre les cellules de garde et parfois s'élargit comme une vésicule sous stomatique, à partir de laquelle des hyphes fongiques se développent. La pénétration stomatique sans formation d'appressorium est rarement observée (Fig. 4). L'appressorium est presque aussi gros que la cellule épidermique et donc une partie de sa surface adhère à la cuticule. Pendant la pénétration directe à partir du point de contact des surfaces, une petite papille fongique fine pénètre dans la cellule épidermique par la cuticule. Sur la cuticule, une ouverture, marquée d'un petit bouton brun entouré d'une zone sombre caractéristique, apparaît (Fig. 5). La papille d'infection croît rarement entre les deux cellules épidermiques. Comme elle traverse jusque dans les profondeurs de la cellule épidermique, l'hyphe fongique s'agrandit (Fig. 6). Habituellement, l'hyphe fongique continue de pousser dans le tissu hôte vers les faisceaux vasculaires. L'orientation du tube germinatif vers un stomate est cruciale pour la pénétration

stomatique (Figs. 3, 4). Tandis que la pénétration se produit près d'un stomate, l'hyphes fongique pousse entre l'épiderme et les cellules du mésophylle sous-jacent. Pendant la période de pénétration et d'installation, un contenu de couleur orange pâle apparaît dans l'hyphes. La formation d'haustorium se produit dans les 72 heures d'incubation.

En quelques occasions, les urédiniospores produisent un tube germinatif très court en formant une structure ressemblant à un appressorium à l'extrémité qui peut être considérée comme une vésicule (Figs. 7, 8). Ce ne sont pas des appressoriums typiques car ils sont nés d'un tube germinatif anormalement court et parfois même, sans tube germinatif du tout, ils ont une paroi fine et sont de taille plus importante.

Le tube germinatif de l'urédiniospore s'oriente presque perpendiculairement aux nervures de la feuille indiquant ainsi la réponse de la spore aux lessivages du mûrier. L'exudat formé autour du tube germinatif de l'urédiniospore sert à attacher le tube germinatif au substrat (Fig. 9). Parfois, une multitude d'appressoriums sont produits avant la pénétration par un urédiniospore germinatif.

Etablissement des hyphes dans le mésophylle

Après la pénétration et la formation réussie d'une vésicule dans une cellule épidermique, des développements en forme de doigts irréguliers émergent d'un lobe primaire. Les deux ou trois cellules du mésophylle sous-jacentes, sous le point de pénétration sont d'abord infestées par les hyphes en pleine croissance (Fig. 10). A partir de ces cellules, des hyphes se propagent à l'intérieur vers le tissu vasculaire en poussant à travers les espacements intercellulaires. Entre 48 et 72 heures, les hyphes deviennent légèrement enflées et le développement en forme de doigt fin peut être observé pénétrant la cellule adjacente (Fig. 11). La rouille fongique commence à s'établir dans d'autres cellules du mésophylle de la feuille dans les 96 heures suivant l'inoculation (Fig. 12) et le mycélium se répand dans toutes les directions après 120 heures. Les hyphes semblent être intercellulaires lors des premières étapes de l'infestation, mais sur les lésions sporulantes matures, le mycélium reste intra et inter-cellulaire. Les hyphes grossissent de façon inter et intra-cellulaire en une ligne presque droite comme la disposition du tissu hôte le permet (Fig. 13). Tandis que l'infestation progresse, le mycélium envahit le tissu palissadique et les cellules du parenchyme spongieux, les plastes deviennent irréguliers, plus souvent agglomérés et pâles, laissant une masse homogène uniforme incolore.

La propagation latérale des hyphes entre les cellules du mésophylle spongieux et la propagation verticale entre les cellules palissadiques sont observées chez la feuille de mûrier infestée par la rouille. Tandis que les hyphes s'établissent dans le mésophylle, les hyphes les plus vieilles de la zone de pénétration se vident du cytoplasme. Les hyphes apparaissent de formes irrégulières à cause de leur rencontre avec les parois des cellules du mésophylle. Les hyphes, lorsqu'elles sont libres, forment des files (Fig. 14). Les surfaces lisses des cellules couvrant le faisceau vasculaire forment une place favorable pour la propagation des hyphes, ces hyphes courent le long des cellules sur des distances considérables. L'extrémité d'un stolon est effilée et avec un cytoplasme dense. Lorsque l'extrémité hyphale touche la paroi d'une cellule hôte, elle se trouve enclavée en un angle entre deux cellules ou plus et pousse au hasard dans les espaces intercellulaires du mésophylle de la feuille. Elle produit aussi des haustoriums. La cellule productrice d'haustorium possède une large surface de contact avec la cellule hôte et son contenu est très dense. Lorsque l'haustorium du champignon pénètre, un pore circulaire minuscule se forme dans la paroi de la cellule hôte probablement dû aux enzymes sécrétées par le champignon (Fig. 11). L'extension de la cellule fongique dans l'hôte est accompagnée par une invagination correspondante du protoplaste de l'hôte. Le mycélium parasite croît dans la cellule passant alors d'une condition extra cellulaire à intracellulaire au fur et à mesure que la colonisation du pathogène progresse.

Chez le mûrier, la variation en hydrates de carbone disponibles est importante pour le développement des structures infectieuses et la colonisation (Prasad, 1994). La nature buissonneuse des mûriers et un espacement étroit maintiennent une humidité adéquate à l'intérieur des voûtes de

feuillage. L'humidité joue sur la formation d'une fine cuticule et favorise l'invasion par des urédiniospores en germination.

Les plants, qui croissent dans un environnement humide, ont des feuilles avec une cuticule fine (Heather, 1967), et le lessivage se fait rapidement. Les phytopathogènes dégradent la cire d'une partie de la cuticule sur la feuille, facilitant ainsi la pénétration des structures infectieuses produites par les spores du pathogène (Blakemen, 1973). La population microbienne sur la feuille de mûrier augmente avec l'âge et influence la dégradation de la cire de la surface des feuilles (Prasad et Sukumar, 1991). Les urédiniospores de *Uromyces*, *Puccinia* et *Melampsora* germent, poussent vers le stomate et développent des appressoriums directement au-dessus des ouvertures stomatiques (Lewis et Day, 1972). La pénétration stomatique sans la formation d'appressorium a été parfois observée chez la rouille du mûrier. Les urédiniospores de la rouille du mûrier peuvent germer et pénétrer sur chaque surface de la feuille. La pénétration directe à partir de la cuticule à travers l'épiderme supérieur, la propagation de l'infestation par les cellules épidermiques aux cellules palissadiques et ensuite plus profondément sont observées chez le mûrier. Une grande quantité d'exsudat mucilagineux se forme autour du tube germinatif et des appressoriums des urédiniospores de la rouille du mûrier. La pénétration directe de la rouille a été observée chez *Phakopsora pachyrhizae*, le pathogène de la rouille du soja (Barclay, 1890) et *Puccinia psidii*, le pathogène de la rouille du jambosier (Hunt, 1968). L'appressorium de *P. pachyrhizae* se développe au dessus des parois anticlinales ou au centre des cellules épidermiques, mais rarement sur la stomate. Le phénomène de la pénétration à travers la cuticule est relativement commun (Hunt, 1968).

Les urédiniospores de la rouille chez le mûrier germent et forment des structures fongiques dans diverses solutions nutritives à pH 6.7 ± 0.2 *in vitro* (Prasad, 1994). Parfois, les contenus des urédiniospores et du tube germinatif se déplacent dans une vésicule. Des structures anormales similaires ont été observées sur des tubes germinatifs d'urédosporos de *Puccinia graminis* (Plowright, 1889) *P. iridis*, *P. jagopyri* (Barclay, 1890). Dans tous les cas, la germination d'une spore a été étudiée dans l'eau. Le comportement exact sur une feuille n'a pas été étudié.

Pendant les mois d'août à février, période de l'année où les nuits humides prévalent, une température chaude et un vent modéré facilitent l'infestation par la rouille (Prasad, 1994). La température nocturne est une composante importante dans le modèle de prévision. Le minimum requis pour l'infestation est de six à neuf heures d'humidité et les périodes d'humidité plus longues augmentent le niveau d'infestation.

Les gouttelettes d'eau sur la feuille dues à la rosée ou au brouillard influencent la germination d'urédiniospores, la formation et la pénétration de structures infectieuses de la rouille sur la feuille. Les structures infectieuses se développent dans un éventail de températures de 20 à 22°C et $83 \pm 8\%$ d'humidité relative. La présence d'hexoses en solution permet le développement des structures infectieuses *in vitro* (Prasad, 1994). Les températures minimales et maximales pour une infestation sous conditions diurnes semblent être de 18 et 28°C pour la rouille. La germination d'urédiniospores de *Puccinia graminis* se produit en-dessous de 23°C et la phase de pénétration maximale de l'infestation se fait à 29°C (Sharp et coll., 1958). La diminution de la pénétration à une plus forte température a été constatée chez *Puccinia coronata* (Heagle et Moore, 1970).

Dans la nature, les urédiniospores de la rouille du mûrier portés par le vent tombent en plus grand nombre sur la surface supérieure de la feuille plutôt que sur les surfaces inférieures et la plupart des spores pénètrent la feuille par la surface supérieure à travers la cuticule. En ce qui concerne la rouille du mûrier, des séries d'événements sont impliquées dans le développement de la maladie, à partir du moment de la pénétration et de l'établissement de l'hyphes, qui sont compatibles dans les interactions rouille-hôte.

CONCLUSIONS

Peridiopsisora mori Barclay (Prasad et coll., 1993) est un biotrophe du feuillage de *Morus alba* L., causant des dommages importants chaque année pendant les mois d'août à février. Le pathogène existe dans un état amorphe. Les urédiniospores sont les seuls éléments impliqués dans la propagation de la maladie. Les urédiniospores germent, produisant ainsi un tube germinatif un appressorium et des papilles. La ramification de l'hyphe est apparente dans les zones du mésophylle spongieux. La propagation latérale de l'hyphe se déroule entre les cellules du parenchyme spongieux et la propagation verticale entre les cellules palissadiques des feuilles infestées par la rouille. Le développement de l'haustorium vésiculaire dans la structure hyphale se produit par la croissance de mycélium dans la cellule hôte passant ainsi d'une condition extracellulaire à une condition intracellulaire au fur et à mesure que la colonisation par le pathogène progresse.

PHYSIOBIOCHEMICAL CHANGES IN THRIPS INFECTED MULBERRY LEAVES

T. SENGUPTA, A. K. MISRA, C. DAS, K. K. DAS, S. K. SEN & B. SARATCHANDRA

Mulberry Physiology Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

The present study was carried out to observe the leaf positionwise status of physio-biochemical characters in thrips infested mulberry leaves. The results revealed that the difference between type of leaf (healthy or infested) as well as position of leaf is significant except transpiration. Photosynthesis, total soluble protein and nitrate reductase activity of infested leaves were drastically deteriorated than healthy leaves in all leaf position. The degree of thrips infestations were much higher in 3rd to 7th number of leaves from top as evidenced by the physiobiochemical study. However, relationship between nitrate reductase and protein, photosynthesis and protein and photosynthesis with nitrate reductase were highly significant.

Keywords: Thrips, Physiobiochemical characters, photosynthesis, nitrate reductase.

INTRODUCTION

A number of phytophagous insects have been found to attack several crops, particularly during the months of February to June with a population of several hundred per leaf. Generally, they inhabit on the tender leaves of mulberry plants and suck the juicy cell sap from the leaf. Thrips are one such major important limiting factor of mulberry production in West Bengal.

Due to thrips (*Thysanoptera*) menace, quality of mulberry leaves as well as quantity of mulberry leaves decreases and makes a serious problem to farmers for rearing and to get a good crop. Infestation by thrips has been reported on several horticultural vegetables, grains and fibre crops (Latauschke & Vetzal, 1986; Chang, 1987), but very few work has been done on thrips infestation on mulberry. Few years back at CSR & TI, Mulberry Physiology Section, Berhampore, West Bengal, work was done on "Biochemical changes due to thrips infestation in mulberry" by Das *et al.* (1991), but physiological changes due to thrips infestation in mulberry leaves and its effect on enzyme activity has not been done so far. So the present investigation reports the physiological changes of mulberry leaves due to thrips infestation.

MATERIALS AND METHODS

The infested as well as healthy mulberry leaves of different position were selected for this experiment at CSR & TI, Berhampore Mulberry field. S1, an improved mulberry variety was selected for this experiment. Starting from the top of the plant, 3rd, 5th, 7th, 9th and 11th position leaf both healthy and infected were considered for the experiment. Photosynthesis (A), transpiration (T), water use efficiency (PWUE), stomatal conductance (g_s), stomatal resistance (r_s), of these leaves were measured *in situ* using LI COR - 6200 portable photosynthetic system. The observations were recorded between 10.00 am to 12.00 noon for both healthy and infected leaves. Protein was estimated from 100 mg healthy and infected leaf samples according to Lowry *et al.* (1951) using UV-Vis

spectrophotometer. The rate of Nitrate reductase activity was also measured according to Jaworskie (1971) to find out the status of nitrogen metabolism of the plant system. The data presented includes the average of the values of the three replications and the data was analysed statistically.

RESULTS

A perusal of data (Table I) reveals that infestation by thrips caused significant differences between healthy and infested leaf as well as different order of leaves in all the characters. A remarkable decrease in physiological parameters namely Photosynthetic rate and stomatal conductance were found in thrips infested leaves, whereas stomatal resistance found higher with the infestation of disease. Photosynthetic rate decreases maximum in 3rd infected leaf from $5.8 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ to $0.814 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (86%) followed by 5th leaf (75.12%). Most of the other characters have relatively higher value in the leaves of 5th position either with infected or fresh leaves.

Table I. Changes in gas exchange parameters of healthy and thrips infested leaves of mulberry *S*₁.

Tableau I. Modifications des paramètres d'échanges gazeux chez les feuilles saines et attaquées par des thrips, chez le mûrier S₁.

Leaf position	Photosynthesis $\text{M. m}^{-2} \text{s}^{-1}$		Transpiration $\text{M. m}^{-2} \text{s}^{-1}$		Stomatal resistance s/cm		Stomatal conductance cm/s	
	Healthy	Infested	Healthy	Infested	Healthy	Infested	Healthy	Infested
	<i>Photosynthèse $\mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$</i>		<i>Transpiration $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$</i>		<i>Résistance des stomates s/cm</i>		<i>Conductivité des stomates cm /s</i>	
<i>Position des feuilles</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>
3rd / 3ème	5.816	0.814	0.025	0.019	1.359	1.963	0.756	0.516
5th / 5ème	11.770	2.928	0.026	0.024	1.036	1.156	0.966	0.732
7th / 7ème	9.793	3.801	0.025	0.022	1.090	1.330	0.982	0.754
9th / 9ème	8.002	5.759	0.023	0.023	1.299	1.480	0.770	0.677
11th / 11ème	7.311	5.672	0.026	0.029	1.057	1.334	0.946	0.772
Leaf position*		0.7646		0.0074		0.3212		0.3119
<i>Position de la feuille*</i>								
Infected*		0.4836		NS		0.2032		NS
<i>Attaquée</i>								

*CD at 5% / DC à 5 %.

s/cm = Second per centimeter / Seconde par centimètre

cm/s = Centimeter per second / Centimètre par seconde

Table II. Degradation of Nitrate reductase and protein in relation to thrips infestation in S₁ mulberry leaves.

Tableau II. Dégradation de la nitrate réductase et des protéines en relation avec l'attaque de thrips, chez le mûrier S₁.

Leaf position	Nitrate reductase M hr ⁻¹ . g ⁻¹ f. wt		Protein mg. g ⁻¹ f. wt.		PWUE mol of CO ₂ / mol of H ₂ O transpired	
	Healthy	Infested	Healthy	Infested	Healthy	Infested
	<i>Nitrate réductase M. hr⁻¹ . g⁻¹ poids frais</i>		<i>Protéines mg. g⁻¹ poids frais.</i>		<i>M de CO₂ / M d'H₂O transpirée</i>	
<i>Position des feuilles</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>	<i>Saine</i>	<i>Attaquée</i>
3rd / 3ème	8.509	3.667	26.927	18.280	236.167	44.243
5th / 5ème	12.296	9.104	30.773	27.650	451.809	72.407
7th / 7ème	10.747	7.615	30.030	27.557	396.270	169.607
9th / 9ème	10.117	7.241	26.633	24.633	351.996	241.427
11th / 11ème	8.923	7.177	25.733	24.593	283.717	197.730
Leaf position* <i>Position de la feuille</i>	0.6756		0.4820		316471	
Infected* <i>Attaquée</i>	0.4273		0.3049		20.0154	

*CD at 5% / DC à 5 %.

Protein content as well as Nitrate reductase showed significant losses in all the leaf position compared to healthy leaves (Table II). Water use efficiency decreases drastically in infested leaves of 3rd and 5th position compared to 7th, 9th and 11th position.

Relationship between Nitrate reductase and protein. ($r = +0.91$; $Y = 7.956 + 0.628 X$; $SE = 0.055$); photosynthesis with protein ($r = 0.74$; $Y = -12.166 + 0.698 X$; $SE = 0.12$) and photosynthesis with Nitrate reductase ($r = +0.84$; $Y = -3.684 + 1.154 X$; $SE = 0.138$) are highly significant.

DISCUSSION

The significant difference in the photosynthetic rate between the healthy and infected leaf as well as in different position of diseased leaves indicates that - the more the infestation, the lesser the assimilation rate. This may be due to the destruction or inhibition of Chlorophyll synthesis, the basic photosynthetic pigment, due to enhancement of chlorophyllase activity or destruction of chloroplast and inhibition of carboxylase activity. Similar type of findings has been reported in pea against *Peronospora pisi*, by Singh *et al.* (1993). Shree and Sullia (1988) have found similar results in mulberry leaves affected by powdery mildew. According to Table I, in the 3rd and 5th position of leaf, the percentage of decrease in assimilation rate is maximum, i.e. 86% and 75% respectively, whereas in 11th position of leaf, loss of assimilation rate is slow i.e. 22.4% only. This supports the findings of Das *et al.* (1994) in thrips infested mulberry leaves. Stomatal resistance and stomatal conductance found inversely proportional to each other. Stomatal conductance rate decreases because stomatal resistance is more in all the diseased leaves of different position. This might be due to blockage of stomata by thrips infestation. Internal Carbon - di - oxide increases in diseased leaf which indicates carboxylation efficiency i.e. utilization of internal Carbon - di - oxide is poorer in infested leaf than in healthy one. However, transpiration is not significant. Decrease of protein content in infested leaves may be partly due to utilization by the insect pest at a faster rate for its multiplication (Jhori, 1976).

Hydrolysis of proteins by proteolytic enzymes secreted by the pest itself, may be the other cause of lowering the protein. Enzyme Nitrate reductase showed a clear trend of lower value in infested leaf than in control. There is also variation in Nitrate reductase activity among the different positions of the leaves. This is gaining support from Bongale and Leelavathi (1996). Reduction of NRA found maximum in 3rd infected leaf (56.90%). This may be due to the cause as nitrogen metabolism being higher in younger and metabolically active tissue of tender leaf where the insects tend to attack most.

It is thus clear that the physiological characters of the leaves decrease with the infestation of thrips and the intensity differs with the different positions of the leaves. The amount of the loss is higher in the tender leaves than in the mature ones.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to shri Mangal Saha, Field Assistant for computer typing of the work.

REFERENCES

- BONGALE U. D. & LEELAVATHI B. C. (1996) Nitrate reductase activity in relation to leaf maturity in mulberry (*Morus indica* L.) Indian J. agric. Sci. 35 (1): 71 - 72.
- CHANG N. T. (1987) The damage and control of thrips (insects: *Thysanoptera*) on root crops, pulses and other grain crops. Chinese J. Entomol., Sp. pub., 1: 55 - 72.
- DAS C., SHIVNATH, RAO K. N., GHOSH P. L., SENGUPTA D. & SENGUPTA K. (1991) Biochemical changes due to thrips infestation in mulberry. In Nat. Symposium, plant science in nineties' held at University of Kalyani, March to April 1991. APST 5, 4.
- DAS C., SHIVNATH & SINHA S. S. (1994) Thrips (*Thysanoptera*) infestation losses in mulberry (*Morus alba* L.) Annals of Entomology 12 (1): 1 - 4.
- JAWORSKI E. G. (1971) Nitrate reductase assay in intact plant tissue, Biochem. Biophys. Res. Commun. 43: 1274 - 1279.
- JHORI J. L. (1976) Post infection changes in carbohydrate metabolism in mosaic virus infected *Carica papaya*, Ind. Phytopath 29 (3): 320 - 321.
- LATTAUSCHKE G. & VETZEL (1986) On the occurrence and importance of *Thysanoptera* in cereal growing. Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR, 40: 162 - 165.

- LOWRY O. H. ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. & RANDALL R. J. (1951) Protein measurement with folen phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265 - 275.
- SINGH U. P., PRITHNIRAG B., DUBEY R. S. (1993) *Peronospora pisi* spore load on different leaves and its effect on chlorophyll, nucleic acid, protein and phenol content of pea leaves, Indian phytopatho. 46 (4): 374 - 378.
- SHREE M. P., SULLIA S. B. (1988) Proc International Congress on plant physiology 1: 459 - 462.

CHANGEMENTS BIOCHIMIQUES CHEZ LES FEUILLES DE MURIER ATTAQUÉES PAR DES THRIPS

T. SENGUPTA, A. K. MISRA, C. DAS, K. K. DAS, S. K. SEN & B. SARATCHANDRA

Mulberry Physiology Section, Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore - 742 101, Bengal Ouest, Inde.

L'étude actuelle a été menée afin d'observer les caractéristiques physio - biochimiques de la feuille de mûrier attaquée par des thrips, en fonction de sa position. Les résultats révèlent que les différences selon le type de feuille (saine ou attaquée) et selon la position de la feuille sont significatives, excepté en ce qui concerne la transpiration. La photosynthèse, les protéines solubles totales et l'activité de la nitratre - réductase des feuilles attaquées, sont considérablement plus faibles que chez les feuilles saines de toutes les positions. Le degré d'attaque par les thrips est plus élevé des troisièmes aux septièmes feuilles en partant du haut, ainsi que ceci a été mis en évidence grâce à l'étude physiobiochimique. Cependant, les corrélations entre la nitratre - réductase et les protéines, entre la photosynthèse et les protéines et entre la photosynthèse et la nitratre - réductase, sont hautement significatives.

INTRODUCTION

Un certain nombre d'insectes phytophages sont connus pour attaquer plusieurs cultures, plus particulièrement pendant les mois de février à juin avec une population de plusieurs centaines d'individus par feuille. Ils vivent généralement sur les feuilles tendres des plants de mûrier et sucent la sève juteuse des feuilles. Les thrips sont l'un des facteurs les plus importants qui freinent la production de mûriers au Bengale ouest.

En raison de la menace due aux thrips (*Thysanoptera*), la qualité ainsi que la quantité des feuilles de mûrier diminuent et posent un problème sérieux aux fermiers désireux d'obtenir de bonnes cultures. L'attaque par les thrips a été remarquée sur plusieurs cultures horticoles des graines et les cultures à fibres (Lattauschke & Vetzal 1986 ; Chang, 1987), mais peu d'études ont été consacrées à l'attaque du mûrier par les thrips. Quelques années auparavant au C. S. R. & T. I., Mulberry Physiology Section, Berhampore, Bengale ouest, un rapport a été fait sur "Les changements biochimiques chez le mûrier provoqués par l'attaque des thrips", par Das et coll. (1991), mais les changements physiologiques provoqués par les thrips dans les feuilles de mûrier et ses effets sur l'activité enzymatique n'ont pas encore été étudiés. Ainsi, l'investigation actuelle rend compte des changements physiologiques chez les feuilles de mûrier provoqués par les thrips.

MATERIELS ET METHODES

Les feuilles de mûrier saines et attaquées situées à des positions différentes, ont été sélectionnées pour cette expérience dans la plantation de mûriers du C. S. R. & T. I., Berhampore. S₁, une variété de mûrier améliorée, a été sélectionnée pour cette expérience. Nous avons considéré, en partant du sommet de la plante, les 3^{ème}, 5^{ème}, 7^{ème}, 9^{ème} et 11^{ème} feuilles, aussi bien saines qu'endommagées. La photosynthèse (A), la transpiration (T), les échanges gazeux (PWUE), la conductivité des stomates (g_s) et la résistance des stomates (r_s) de ces feuilles ont été mesurés *in situ*, en utilisant un système

portable photosynthétique, le LICOR - 6200. Les observations ont été enregistrées entre 10 h et 12 h à la fois pour les feuilles saines et affectées. Les protéines ont été estimées à partir de 100 mg de feuilles saines ou attaquées, d'après Lowry et coll. (1951) en utilisant un spectrophotomètre UV - Vis. Le taux d'activité de la nitrate - réductase a également été mesuré selon Jaworskie (1971), afin d'établir le statut du métabolisme de l'azote du système végétal en question. Les données présentées tiennent compte des moyennes des valeurs de trois répétitions et elles ont été soumises à une analyse statistique.

RESULTATS

Un examen attentif des données du Tableau I, révèle que l'attaque par le thrips entraîne des différences significatives entre les feuilles saines et affectées ainsi qu'entre les feuilles des différents ordres pour toutes les caractéristiques. Une diminution remarquable des paramètres physiologiques, particulièrement du taux de photosynthèse et de la conductivité des stomates, a été remarquée chez les feuilles attaquées par des thrips, alors que la résistance des stomates est élevée lors de l'attaque de la maladie. La diminution du taux de photosynthèse est à son maximum chez la troisième feuille, avec un taux qui passe de $5,8 \mu \text{ moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ à $0,814 \mu \text{ moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (86 %), suivie par la cinquième feuille (75,12 %). La plupart des autres caractéristiques ont des valeurs relativement plus élevées chez les feuilles situées en cinquième position, que ce soit chez des feuilles affectées ou non.

La teneur en protéines ainsi que l'activité de la nitrate - réductase baissent de manière significative chez toutes les feuilles attaquées (Tableau II). Les échanges gazeux diminuent de façon drastique chez les feuilles infestées de la troisième à la cinquième position par rapport à celles situées en septième, neuvième et onzième position.

Les corrélations entre la nitrate - réductase et les protéines, ($r = 0,91$; $Y = 7,956 + 0,628 X$; écart - type = 0,055) ; entre la photosynthèse et les protéines ($r = 0,74$; $Y = + 12,166 + 0,698 X$; écart - type = 0,12) et entre la photosynthèse et la nitrate - réductase ($r = + 0,84$; $Y = + 3,684 + 1,154 S$; écart - type = 0,138) sont très positives.

DISCUSSION

La différence significative entre les taux de photosynthèse des feuilles saines et des feuilles attaquées ainsi qu'entre les feuilles malades des différentes positions, indique que plus la maladie est à un stade avancé, moins le taux d'assimilation est élevé. Ceci peut être dû à la destruction ou à l'inhibition de la synthèse de la chlorophylle, le pigment photosynthétique de base, ceci étant dû à l'augmentation de l'activité chlorophyllase ou à la destruction des chloroplastes et à l'inhibition de l'activité carboxylase. Des résultats similaires ont été notés chez le petit pois attaqué par *Peronospora pisi*, Singh et coll. (1993). Shree & Sullia (1988) ont obtenu des résultats similaires chez les feuilles de mûrier infectées par le mildiou poudreux.

D'après le Tableau I, pour les feuilles situées en troisième position, le pourcentage de diminution du taux d'assimilation est maximum, à savoir 86 % et pour celles situées en cinquième position, il est de 75 % alors que pour les feuilles situées en onzième position, la perte du taux d'assimilation est faible, à savoir 22,4 % seulement. Ceci confirme les résultats de Das et coll. (1994) dans leurs études sur l'infestation des feuilles de mûrier par les thrips. La résistance et la conductivité des stomates sont inversement proportionnelles. Le taux de conductivité des stomates diminue parce que la résistance des stomates est plus élevée pour toutes les positions des feuilles malades. Ceci pourrait être dû au blocage des stomates. Le dioxyde de carbone interne augmente chez les feuilles malades, ce qui indique que l'efficacité de la carboxylation, (à savoir l'utilisation du dioxyde de carbone interne) est plus faible chez les feuilles malades que chez les feuilles saines. Cependant, la transpiration n'est pas affectée de manière significative. La diminution de la teneur en protéines chez les feuilles attaquées peut être due en partie à leur utilisation à un taux plus rapide par l'insecte parasite (Jhori, 1976).

L'hydrolyse des protéines par des enzymes protéolytiques sécrétées par l'insecte parasite lui-même, pourrait être l'autre raison de la diminution des protéines. La nitrate - réductase est nettement plus faible chez les feuilles attaquées que chez les feuilles témoins. Il existe également une variation de l'activité de la nitrate - réductase selon les différentes positions des feuilles. Ceci est confirmé par Bongale & Leelavathi (1996). La réduction d'activité de la nitrate réductase est maximale pour les feuilles situées en troisième position (56,90 %). Ceci semble être dû au métabolisme de l'azote plus élevé chez les tissus plus jeunes et métaboliquement actifs des feuilles tendres, là où les insectes tendent à attaquer le plus.

Il est donc clair que les caractéristiques physiologiques des feuilles sont détériorées par l'attaque des thrips et que l'intensité diffère selon les différentes positions des feuilles. La détérioration est plus importante chez les feuilles tendres que chez les matures.

SEVERITY OF RUST DISEASE ON MULBERRY UNDER DIFFERENT PLANTING DENSITIES

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV² & S.B. SULLIA³*

1&2. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore 560 062, India.

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus,
Bangalore 560 056, India.

*The rust epidemics caused by **Peridiopsora mori** Barclay (Prasad et al., 1993) on **Morus alba** L. foliage during August to February, results in reduction of biomass production by premature defoliation. Disease severity is high in closer spaced mulberry plantation. Rust disease severity can be significantly reduced in wider spaced mulberry planting system i.e., 90 × 90 cm and 120 × 60 cm than in 60 × 60 cm and lesser spaced system with leaf harvest method. Hence, growing of mulberry plants under wider spacing is ideal.*

Keywords: Mulberry, rust, severity, spacing.

INTRODUCTION

The paradox of sericulture industry is that the favourable cocoon producing seasons happen to be the periods of low leaf yield due to severity of foliar diseases. Disease severity is quantifiable by directly correlating it with the extent of plant tissue affected by the disease (James, 1974).

The rust pathogen *Peridiopsora mori* (Barclay) Prasad et al. (Prasad et al., 1993) is an obligate parasite on foliage of *Morus alba* L. This pathogen is prevailing in anamorphic state and produces only urediniospores with very thick wall for protection and urediniospores are the only form of inoculum which exists on soil surface associated with mulberry plant debris. Due to unfavourable climatic condition for rust establishment during May to July months the inoculum hibernates on debris. During August to February the rust causes severe damage to mulberry leaves in India and later the severity of disease declines.

Irrigation is one of the principle means of increasing mulberry leaf biomass. According to Rotem and Palti (1969), diseases on crops became common after irrigation as a consequence of moisture and temperature changes, which generated epidemic development of disease. The effect of spacing on disease development, depends on the interaction between conditions created by this factor and irrigation, weather factors, nature of the pathogen and crop variety. In sericulture belts different plant spacings are followed in traditional and non-traditional areas. Not much is known about the effect of rust caused by *Peridiopsora mori* on mulberry under different agronomical practices including spacing. Hence this investigation was undertaken to assess the rust disease severity under different crop densities of mulberry grown in narrow and wider spacings under irrigated condition.

* Address for correspondence.

MATERIALS AND METHODS

The assessment of mulberry rust severity under different spacings during the period from 1989 to 1991 was carried out in the variety M-5 (*Morus alba* L.) at the Institute farm Bangalore located at 12° 57' N, 77° 35' E and elevated at 914 MSL with soil containing 1.3 % of organic carbon and 6.8 pH.

The mulberry plants were grown under different spacings: S1 = 60 × 23 cm with 68 800 plants ha⁻¹ ; S2 = 60 × 60 cm with 25 600 plants ha⁻¹ ; S3 = 120 × (60 × 60) cm - paired row system with 17 600 plants ha⁻¹ ; S4 = 120 × 60 cm with 12 800 plants ha⁻¹ ; and S5 = 90 × 90 cm with 12 100 plants ha⁻¹.

The rust pustules are usually small in size (0.6 ± 0.05 mm in diameter) and large in number, located on the adaxial surface of the leaf. To assess the severity of rust, the number of pustules per cm² leaf area was counted. To overcome the discrepancy that will occur due to visual rating assessment of rust severity on mulberry foliage, a modified methodology by counting the number of pustules (young and mature) per cm² of leaf area was carried out. The counting of pustules was done at 3 random locations on each leaf from top most glossy leaf (positioned as first fully unfurled leaf from shoot apex) to the senescing leaf (last leaf on a shoot which is about to fall) of the same shootlet. Pustules were counted by placing a Perspex graticule of 10 × 10 cm engraved with lines of 1 cm on each leaf. The mean pustule number per cm² leaf area, i.e. "x", for each leaf of shoot was calculated. The "x" of all the leaves of a shoot were summed up and divided by the total number of leaves present on that shoot to obtain the mean severity of rust pustules $\bar{x}$ per cm² leaf area of the shoot. Thirty plants were selected for rust severity assessment from each treatment in a completely randomised design excluding border plants. The above procedure was repeated for 30 shootlets from 30 plants of a treatment wherein one robustly grown shoot was considered from each plant. The $\bar{x}$ of all the 30 shootlets of a treatment was considered to calculate the grand mean X which depicted the rust severity by number of pustules per cm² area of leaf in a treatment. The assessment of the disease severity was carried out at two weeks intervals up to 75 days from the date of pruning. However, the 5th assessment was used for comparisons (Table I) because it had a higher number of pustules.

The severity data recorded in all the treatments were subjected to statistical analysis (ANOVA). The observed difference between the mean number X pustules of the treatments was compared with critical difference (CD) value. Values obtained by Student's least significant difference at P = 0.05 was used to test the significance.

The meteorological data of temperature, relative humidity and rainfall (if any) were recorded daily. The mean minimum and mean maximum temperatures in °C and mean relative humidity for each month and total rainfall in mm for each month were calculated and presented in Figure 1.

The severity of rust disease was assessed in plants grown in above mentioned spacings by applying farm yard manure and chemical fertilizer as per the recommended dosage (Rangaswami *et al.*, 1976) under irrigated conditions. The irrigation was done once in a week based on soil type and precipitation.

RESULTS

The analysis of data (Table I) revealed that the severity of the rust disease during September to November and December to February was found to be high in narrow spaced and densely planted plantation. It was observed that the number of pustules per cm² leaf area found were 34-37 in S1 ; 26-27 in S2 ; 24-25 in S3 ; 17-21 in S4 and 14-16 in S5 during September to November. While the number of pustules per cm² leaf area was found reduced i.e., 25-30 in S1 ; 20-25 in S2 ; 9-18 in S3 ; 6-14 in S4 and 4-8 in S5 during December to February. From the results, it is clear that the rust severity decreases with increase in plant spacing and with lower planting density. Rust severity was significantly less in 120 × (60 × 60) cm spacing ; 120 × 60 cm spacing and the least under 90 × 90 cm

spacing. Thus, the low planting density of mulberry with wider spacing reduces severity of rust on mulberry foliage.

DISCUSSION

The rust disease assessment on mulberry leaf was done once in two weeks considering the regeneration span of *Peridiopsisora mori*, that is 14 ± 1 days. The assessment of infection level/severity of *Puccinia polysora* on *Zea mays* L. was carried out at 14 days after the inoculation and incubation (Hollier and King, 1985). They evaluated the pustule density by a scale of 0-3 and in the other method of assessment, mean percentage of infection had been considered.

The factors affecting infection gradients from the point source of *Puccinia polysora* on *Zea mays* L. until 30th day at 10 days intervals was studied by considering regeneration time of uredo-stage (Cammack, 1958). At each date he determined the number of infected plants and took pustule counts

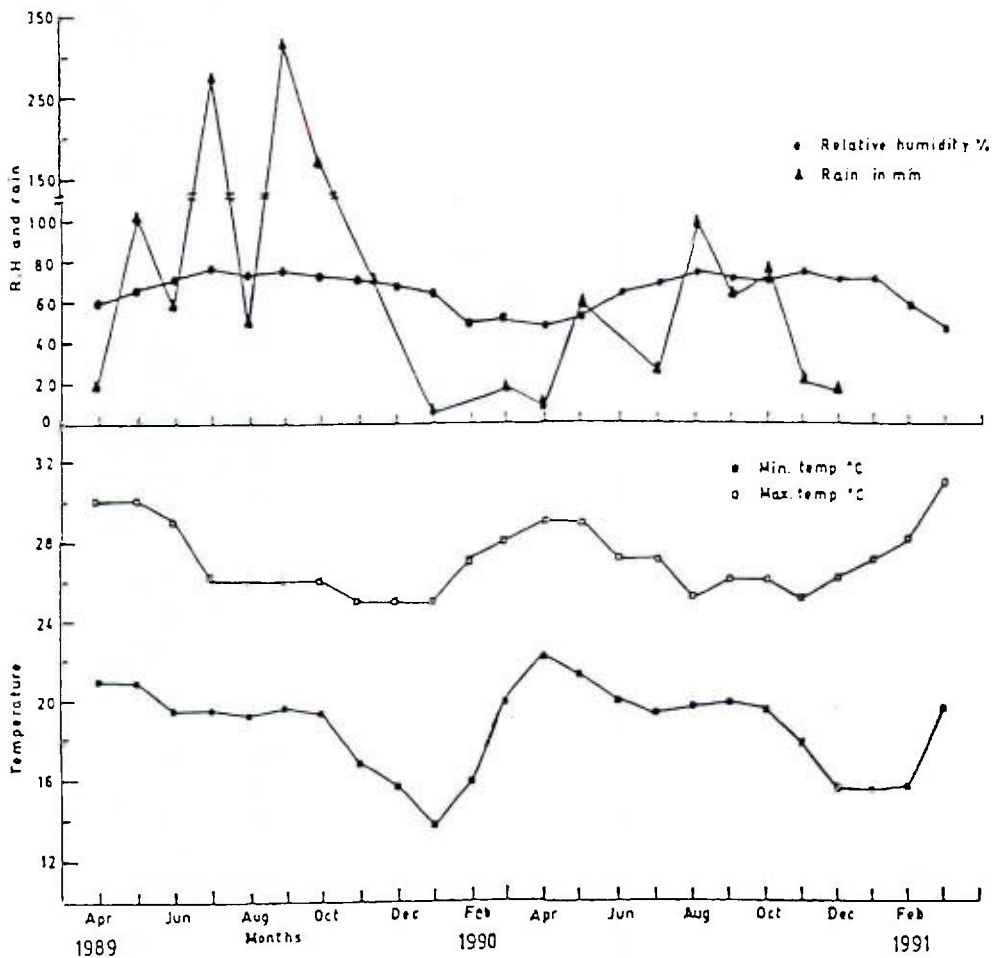


Figure 1. Meteorologic data for the period April 1989 to March 1991.

Figure 1. Données météorologiques pour la période d'avril 1989 à mars 1991.

on the 3rd, 5th and 7th leaves. However, he concluded that three leaves chosen were not adequate since some plants showed the pustules on leaves other than those being assessed and consequently were not included in percentage of plants infected leading to quantitative error.

Table I. Rust disease severity (pustules / cm²) under different planting densities.

Tableau I. Sévérité de la maladie de la rouille (pustules / cm²) pour des densités de plantation différentes.

Duration / Durée	Spacings / Espacements					df=149	CD
	S1	S2	S3	S4	S5	Se	P = 0.05
T1	36.71	26.50	25.30*	16.90*	13.95*	0.33	0.65
T2	33.95	27.38	24.50*	20.60*	16.03*	0.48	0.95
T3	30.45	24.90	17.75*	13.72*	8.10*	0.30	0.59
T4	24.50	20.30	9.10*	5.60*	3.80*	0.17	0.34

Spacings = S in cm.

Espacement = S en cm

S1 = 60 × 23

S2 = 60 × 60

S3 = 120 × (60 × 60)

S4 = 120 × 60

S5 = 90 × 90

* = Significant / Significatif

T1 = Sept. - Nov. 1989

T2 = Sept. - Nov. 1990

T3 = Dec. 1989 - Feb. 1990

T4 = Dec. 1990 - Feb. 1991

CD : Critical Difference

DC : Différence Critique

Hence, to overcome the discrepancy made in studies by Hollier and King (1985) and Cammack (1958), in the assessment of the severity of rust by using either scale or visual rating, we considered all the leaf on a shoot in the assessment of mulberry rust severity by counting the actual number of pustules present in an unit area of leaf i.e., 1 cm².

Irrigation induces shoot and foliage development in mulberry and this leads to the lowering of temperature with longer period of high moisture in the lower foliosphere and top soil layers. Thus, the lower leaves were exposed to increased danger of fungal infection. Mulberry rust, prefers growing foliage for infection and is practically favoured by irrigation. A temperature range of 15-28 °C and humidity of 70 % and above forms the ideal ecofactor for the rust disease establishment and its epidemics on mulberry. If the weather is dry, the gushing of air from adjoining dry areas will keep the effect of microclimate to minimum as the same is observed with wide spacing of mulberry cultivation with less disease severity.

Absorption of water and the rate of transpiration conditions the turgidity of mulberry plant. Turgidity is expected to be high during night and early morning when infection processes of the pathogen develop. The infection by urediniospores released during the day can succeed only if the turgidity of leaf is maintained and by keeping stomata open with increased metabolic activity. It was pointed out that high soil moisture and pronounced turgidity of plants at the time of infection favoured

the airborne diseases (Brooks and Fisher, 1918 ; Foot *et al.*, 1955 ; Couch and Bloom, 1960 ; Moore *et al.*, 1963 ; Culp and Thomas, 1964 ; Edmunds *et al.*, 1964 ; Rotem and Cohen, 1966).

In semi-arid countries, the effect exerted on microclimate by surface irrigation is non significant from phytopathological point of view. (Rotem and Cohen, 1966 and Rotem *et al.*, 1968).

The mulberry rust urediniospores are air borne and do not usually need water for their dispersal. The dispersal occurring at the time when the leaves were covered by moisture is of obvious advantage to the pathogen. The inoculum washed off from upper to lower leaves by slight drizzling or traces of rain will increase infection and its severity (Prasad, 1994).

The supplementary source of moisture especially dew and fog at the time at which spores are dispersed play an important role in disease severity.

The leaf buds sprout usually 16 ± 4 days after pruning of shoot. Although penetration and establishment of rust pathogen occurs in late tender and early medium leaves the appearance of pustule will be from 5th leaf onwards. The rust disease severity increases from late medium (6-7th leaf) through coarse (15-17th leaf) to senescent (18-20th leaves). Hence, a clear picture of disease can be visualised on leaves of a shoot aged 55 ± 5 days from the time of bud sprouting. More pustules were found on leaves of a shoot aged 65 ± 5 days (Prasad, 1994).

The leaf first unfurled usually remained intact on the shoot up to 45 ± 5 days under pit system with irrigated condition in S1, S2, S3, S4 and S5.

A factor that profoundly affects the microclimate in mulberry crop is the density of foliage under closer spacing. This largely determines the rate at which moisture is withheld in soil which is derived from dew, rain, irrigation etc., usually the dry day and dewy night cycle with diurnal temperature ranges with long moisture period influences the severity of rust (Prasad, 1994).

In 60×23 cm spaced mulberry planting system, plants density is high, which influenced the microclimate, especially the humidity around the plants. This favours the production of urediniospores in large number. The distance between plants is too close in narrow spacings and this helps in dissemination of spores and their establishment. The urediniospores of *Peridiopsora mori* germinate on leaves with the humidity of $83 \pm 8\%$ and temperature $20-22^\circ\text{C}$ with low intensity of light or even in complete darkness. This condition is prevalent during late monsoon and winter seasons. Hence, rust disease severity occurs during winter.

The results show significant increase in the severity of rust with increase in plant density.

Similar observations were made on charcoal stalk rot of sorghum (Patil *et al.*, 1982 and Pande, 1989). During the study of Western gall rust infection of lodgepole pine plantations in different sized forest openings (spacings) it was found that the incidence of the tree rust could vary between different sized openings (spacings) because of differences in microclimate (Blenis and Bernier, 1986). There was a tendency for frequency of infection to increase with decreasing of open space in closer spacings. The coffee rust disease incidence was higher where foliar density was high (Bock, 1962). Uredospores of *Hemeleia vastatrix* did not germinate under strong sunlight, but germinated under low light intensities during cloudy weather. A similar situation was noticed with mulberry rust urediniospores too.

Silkworms are voracious feeders of late medium and coarse leaves in 3rd to 5th instar of their life cycle, while young silkworms (chawki) are fed with tender and early medium leaves (i.e. 1st leaf to 6th leaf from shoot apex) for 10 days. Silkworms relish healthy leaves with high moisture content rather than infected, and comparatively dry leaves. By feeding infected leaves not only the leaves are wasted, but also the quality and quantity of cocoons produced are affected. Hence, feeding with healthy or less infected leaves is preferred.

The mass ratio of leaf and shoot in mulberry ranges between 50:50 to 60:40 irrespective of spacings. The average leaf weight in M-5 variety per plant in irrigated condition is 150-175 g in S1 ; 250-275 g in S2 ; 300-350 g in S3 ; 350-400 g in S4 and 400-475 g in S5. The foliage of S4 and S5 plants are dark green, leathery with higher moisture content and of good quality. The intercultivation practices are easier, less expensive ; green manure intercrops can be grown in wider space planted

gardens. In wider spaced gardens sun rays act as natural disinfectant and humidity between rows and lower foliosphere will be reduced (less than 60 %), thus creating uncongenial atmosphere for the phytopathogens, resulting in lesser disease severity.

In plants with narrow spacing the leaf turns to yellow from green earlier and rust disease severity is more than in plants grown with wider spacings (Prasad, 1994).

The wider spaced mulberry plants of 120 × 60 cm and 90 × 90 cm spacing help to check not only rust disease but also in carrying out intercultivation and other agronomical practices. Hence wider spaced mulberry plantation is recommended for farmers.

CONCLUSION

The pathogen *Peridiopsisora mori* (Barclay) Prasad *et al.*, causes rust disease on mulberry leaves. Urediniospores are the only propagules involved in the spread of this disease. Rust disease severity is high in closer spaced mulberry plantation. Rust disease can be significantly reduced by lowering mulberry planting density and growing mulberry plants in wider spacings of 90 × 90 and 120 × 60 cm (distances in between rows × plants of the same row). In wider spaced gardens the intercultivation practices are easier and economical with the reduction in labour. The solar rays reaching the soil in between the plants cultivated in wider spacings reduces humidity and creates unfavourable microclimatic conditions for increasing of phytopathogen population. This results in reduction of the foliar disease. Hence, growing of mulberry plants under wider spacing is ideal.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Director, Divisional Chief (Moriculture) and Scientific officer I (Plant Protection) of Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore, for facilities. The authors thank A.R. Keshavan, Technical Officer (ICAR), Department of Statistics University of Agricultural Sciences, Bangalore for help in Statistical analysis.

KVP thanks John Lacey and Maureen E. Lacey of Rothamsted experimental station, Harpenden, Herts, England, for providing literature and valuable suggestions.

REFERENCES

- BLÉNIS V.P., BERNIER Y.R. (1986) Incidence of Western gall rust infection of lodgepole pine regeneration in different sized forest openings. *Can. J. For. Res.* 16, 1327-1329.
- BOCK K.R. (1962) Seasonal periodicity of coffee leaf rust and factors affecting the severity of outbreak in Kenya colony. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45 (3) 289-300.
- BROOKS C., FISHER D.F. (1918) Irrigation experiments on apple spot diseases. *J. Agric. Res.* 12, 109-137.
- CAMMACK R.H. (1958) Factors affecting infection gradients from a point of source of *Puccinia polysora* in the plot of *Zea mays* L. *Ann. Appl. Biol.* 46, 186-197.
- COUCH H.B., BLOOM J.R. (1960) Influence of environment on diseases of turfgrasses. II. Effect of nutrition pH and soil moisture on *Sclerotinia* dollar spot. *Phytopathology*, 50, 761-763.
- CULP T.W., THOMAS C.A. (1964) *Alternaria* and *Corynespora* blights of sesame in Mississippi. *Plant. Dis. Rep.* 45, 517-521.
- EDMUNDS L.K., VOIGT R.L., CARASSO F.M. (1964) Use of Arizona climate to induce charcoal rot in grain sorghum. *Plant. Dis. Rep.* 48, 300-302.
- FOOT J.H., HENDRICKSON A.H., WILSON E.E. (1955) Walnut branch Wilt. *Calif. Agr.* 9 (10) 11.
- HOLLIER C.A., KING S.B. (1985) Effects of temperature and relative humidity on germinability and infectivity of *Puccinia polysora* urediniospores. *Plant. Dis.* 69, 937-939.
- JAMES W.C. (1974) Assesment of plant diseases and losses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12, 27-48.

- MOORE L.D., COUCH H.B., BLOOM J.R. (1963) Influence of environment on disease of turf grasses. III. Effect of nutrition, pH, soil temperature, air temperature, soil moisture on *Pythium* blight of highland bentgrass. *Phytopathology*. 53. 53-57.
- PANDE S., MUGHOGHO L.K., KARUNAKAR R.I. (1989) Effect of moisture stress, plant population density and pathogen inoculation on charcoal stalk rot of sorghum. *Ann. Appl. Biol.* 116 (2) 221-232.
- PATIL R.C., DESHAMANE N.B., PANDHARE T.M. (1982) Effect of plant density and row spacing on charcoal rot incidence in four cultivars of sorghum. *Sorghum Newsletter* 25. 110.
- PRASAD K.V., DAYAKAR YADAV B.R., SULLIA S.B. (1993) Taxonomic status of rust on mulberry in India. *Curr. Sci.* 65 (5) 424-425.
- PRASAD K.V., (1994) Epidemiology of the rust disease of mulberry. Ph. D. thesis Bangalore University, Bangalore, India 1-106.
- RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.A., JOLLY S. (1976) Manual on Sericulture. Vol. I, Mulberry Cultivation, Food agriculture organisation Rome. 1-150.
- ROTEM J., PALTI J. (1969) Irrigation and plant diseases. *Review of Phytopathology* 267-288.
- ROTEM J., COHEN Y. (1966) The relationship between mode of irrigation and severity of tomato foliage diseases in Israel. *Plant Dis. Rep.* 50. 635-639.
- ROTEM J., COHEN Y., SPIEGEL SARAH (1968) Effect of soil moisture on the predisposition of tobacco to *Peronospora tabacina*. *Plant Dis. Rep.* 52. 310-313.

SEVERITE DE LA MALADIE DE LA ROUILLE CHEZ LE MURIER SOUS DIFFERENTES DENSITES DE PLANTATIONS

K.V. PRASAD¹, B.R. DAYAKAR YADAV² & S.B. SULIA³

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

3. Department of Microbiology, Bangalore University, Jnana Bharathi Campus, Bangalore 560 056, Inde.

*Les épidémies de rouille causées par **Peridiopsora mori** Barclay, (Prasad et coll., 1993) sur le feuillage de **Morus alba** L. pendant les mois d'août à février, résultent en une réduction de la production de biomasse par une défoliation prématurée. La sévérité de la maladie est supérieure dans une plantation où les mûriers sont serrés. La sévérité de la maladie de la rouille peut être réduite de façon significative dans un système de plantation plus espacé, i.e., 90 × 90 cm et 120 × 60 cm plutôt que 60 × 60 cm ou moins espacé. Donc, la croissance des mûriers avec un espacement plus grand est idéal.*

INTRODUCTION

Le paradoxe dans l'industrie séricicole est que la période favorable pour la production de cocons se trouve être la période où les mûriers ont un faible rendement en feuilles à cause de la forte sévérité des maladies du feuillage. La sévérité de la maladie est quantifiable par la mesure de l'ampleur de l'infestation des tissus de la plante (James, 1974).

Le pathogène *Peridiopsora mori* Barclay, (Prasad et coll., 1993) est un parasite obligatine du feuillage de *Morus alba* L. Ce pathogène prédomine dans un état amorphe et produit seulement ses urédiniospores avec une paroi protectrice très épaisse, les urédiniospores étant la seule forme d'inoculum qui existe sur la surface du sol associé aux débris des mûriers. A cause des conditions climatiques défavorables à l'établissement de la rouille pendant les mois de mai à juillet, l'inoculum hiberne dans les débris. En Inde, pendant les mois d'août à février, la rouille cause des dommages importants aux feuilles de mûrier puis, les mois suivants, la sévérité de la maladie décroît.

L'irrigation est le moyen principal pour l'accroissement de la biomasse des feuilles de mûrier. Selon Rotem et Palti (1969), les maladies sur les récoltes sont habituelles après irrigation, elles sont la conséquence de l'humidité et des changements de température, cela génère un développement épidémique de la maladie. L'effet de l'espacement sur le développement de la maladie dépend de l'interaction entre les conditions créées par ce facteur et l'irrigation, le facteur temps, la nature du pathogène et la variété cultivée.

Dans les zones séricicoles traditionnelles et non traditionnelles, des espacements différents sont adoptés. Peu d'information existe concernant les effets de la rouille causés par *Peridiopsora mori* chez le mûrier selon différentes pratiques agronomiques incluant l'espacement.

D'où cette étude, entreprise afin d'évaluer la sévérité de la maladie de la rouille sous différentes densité de culture de mûriers.

MATERIELS ET METHODES

L'évaluation de la sévérité de la rouille sur le mûrier pour différents espacements a été menée de 1989 à 1991 avec la variété M-5 (*Morus alba* L.) à l'Institut Farm de Bangalore située à 12° 57' N, 77° 35' E et à une altitude de 914 m, avec un sol contenant 1,3 % de carbone organique à pH 6,8. Les mûriers ont poussé dans différents espacements : S1 = 60 × 23 cm avec 68 800 plants ha⁻¹ ; S2 = 60 × 60 cm avec 25 600 plants ha⁻¹ ; S3 = 120 × (60 × 60) cm - rangs appairés avec 17 600 plants ha⁻¹ ; S4 = 120 × 60 cm avec 12 800 plants ha⁻¹ et S5 = 90 × 90 cm avec 12 100 plants ha⁻¹. Les pustules de la rouille sont habituellement de petites tailles (0,6 ± 0,05 mm de diamètre) et un grand nombre est situé sur la surface adaxiale de la feuille. Pour évaluer la sévérité de la rouille, nous avons compté le nombre de pustules (jeunes et matures) par cm². Afin de palier aux erreurs qui se produiraient à cause d'une évaluation visuelle de la sévérité de la rouille sur le feuillage du mûrier, une méthode différente a été utilisée pour décompter le nombre de pustules (jeunes et matures) par cm². Le comptage des pustules s'est fait sur trois points différents, pris au hasard, sur chacune des feuilles à partir de la feuille la plus vernissée en haut (positionnée en tant que première feuille complètement dépliée en haut de la tige), jusqu'à la feuille sénescente (dernière feuille sur la tige qui est prête à tomber) de la même branche. Les pustules sont comptées en plaçant un gabarit de 10 × 10 cm. On calcule ainsi le nombre moyen de pustules par cm², 'x', pour chacune des feuilles sur la branche. Les valeurs 'x' de toutes les feuilles d'une branche ont été additionnées puis divisées par le nombre total de feuilles sur cette branche afin d'obtenir la sévérité moyenne de la rouille ($\bar{X}$ par cm²) d'une tige. Trente plants ont été sélectionnés pour l'évaluation de la sévérité de la rouille pour chaque traitement d'une manière aléatoire en excluant les plants situés en bordure de la plantation. Cette procédure a été répétée sur 30 branches de 30 mûriers différents par traitement, à l'intérieur de laquelle une branche solide a été prise en compte pour chaque plant. Le $\bar{X}$ des 30 pousses d'un traitement a été pris en compte afin de calculer le 'x' moyen qui décrit la sévérité de la rouille par le nombre de pustules par cm². L'évaluation de la sévérité de la maladie a été mesurée à intervalles des deux semaines jusqu'à 75 jours après la date de taille. La 5^{ème} évaluation a été utilisée pour faire des comparaisons (Tableau I) car elle présente un nombre de pustules plus important. Les données concernant la sévérité pour tous les traitements ont été soumises à une analyse statistique (ANOVA). La différence observée entre le nombre moyen de pustules "X" des traitements a été comparée avec la valeur de la différence critique (DC). Les valeurs obtenues par la différence la moins significative à P = 0,05 ont été utilisées afin d'en tester la signification.

Les données météorologiques, l'humidité relative et les pluies ont été notées tous les jours. Les températures moyennes minimales et maximales en °C, l'humidité relative moyenne pour chaque mois et le total de pluie en mm pour chaque mois ont été mesurées et sont présentées dans la Figure 1.

La sévérité de la maladie de la rouille a été évaluée sur les plants adultes qui ont poussé dans les espacements mentionnés ci-dessus, en appliquant le dosage recommandé en engrais et en fertilisants chimiques (Rangaswami *et al.*, 1976) avec les conditions d'irrigations. L'irrigation est faite une fois par semaine, en fonction du type de sol et des précipitations.

RESULTATS

L'analyse des données (Tableau I) révèle que la sévérité de la maladie de la rouille de septembre à novembre et de décembre à février est élevée pour la plantation dense à espacement faible. Nous avons remarqué que le nombre de pustules par cm² sur une feuille est de 34-37 chez S1 ; 26-27 chez S2 ; 24-25 chez S3 ; 17-21 chez S4 ; 14-16 chez S5 pendant les mois de septembre à novembre. Le nombre de pustules par cm² s'est avéré plus faible, i.e. 25-30 chez S1 ; 20-25 chez S2 ; 9-18 chez S3 ; 6-14 chez S4 et 4-8 chez S5 pendant les mois de décembre à février. A partir de ces résultats, il est clair que la sévérité de la rouille diminue avec un espacement plus important, accompagnée d'une densité plus faible de plantation. La sévérité de la rouille est, d'une manière significative, moins

importante pour des espacements de $120 \times (60 \times 60)$ cm ; 120×60 cm et 90×90 cm. Donc, la faible densité de plantation et un espacement plus important réduisent la sévérité de la rouille sur le feuillage du mûrier.

DISCUSSION

L'évaluation de la maladie de la rouille sur la feuille de mûrier a été faite une fois toutes les deux semaines, en tenant compte du temps de régénération de *Peridiopsisora mori*, qui est de 14 ± 1 jours. L'évaluation du niveau / sévérité de l'infestation par *Puccinia polysora* sur *Zea mays* L. a été entreprise 14 jours après l'inoculation et incubation (Hollier et King, 1985). Ceux-ci ont évalué la densité de pustules sur une échelle de 0 à 3 et pour l'autre méthode d'évaluation, le pourcentage moyen de l'infestation a été pris en compte.

Les facteurs affectant les gradients d'infestation à partir du point 'source' de *Puccinia polysora* sur *Zea mays* L. jusqu'au 30^{ième} jours, à dix jours d'intervalle, ont été étudiés en considérant le temps de régénération du stade urédo (Cammack, 1958). A chaque date, il détermine le nombre de plants infestés et compte les pustules sur les 3^e, 5^e et 7^e feuilles. Il conclua que le choix de trois feuilles n'est pas pertinent pour la mesure car certains plants montrent des pustules sur des feuilles autres que celles évaluées et par conséquent, comme elles ne sont pas incluses dans le pourcentage des plants infestés cela mène à une erreur quantitative.

D'où, afin de diminuer les écarts faits dans les études de Hollier et King (1985) et Cammack (1958), en ce qui concerne l'évaluation de la sévérité de la rouille par l'utilisation d'échelles ou taux visuel, nous prenons en considération toutes les feuilles d'une branche pour l'évaluation de la sévérité de la rouille en comptant le nombre réel de pustules présentes sur une zone de la feuille i.e., 1 cm^2 .

L'irrigation induit le développement de la tige et du feuillage du mûrier mais cela mène à l'abaissement de la température avec des périodes plus longues de forte humidité au niveau de la foliosphère inférieure et des couches supérieures du sol. Donc, les feuilles les plus basses sont exposées à un danger d'infestation plus grand par le champignon. La rouille du mûrier préfère le feuillage en pleine croissance pour l'infester et elle est favorisée par l'irrigation. Une température de $15\text{-}28^\circ\text{C}$ et une humidité de 70 % et plus se trouve être l'écocfacteur idéal pour l'établissement de la maladie de la rouille et ses épidémies sur le mûrier. Si le temps est sec, les coups de vent venant des zones sèches réduiront l'effet de microclimat au minimum ainsi que nous l'avons remarqué pour les cultures de mûriers espacées avec une sévérité de la maladie moins importante.

L'absorption d'eau et le taux de transpiration conditionne la turgidité du mûrier. La turgidité est supposée plus importante la nuit et le matin lorsque les processus d'infestations du pathogène se développent. L'infestation par urédiniospores lâchées la journée peut être positive seulement si la turgidité de la feuille est maintenue et en gardant les stomates ouverts avec une activité métabolique accrue. Il a été mis en évidence qu'une humidité du sol élevée et une turgidité prononcée des plants pendant la période d'infestation favorisent les maladies transmissibles par voie aérienne (Brooks et Fisher, 1918 ; Foot et coll., 1955 ; Couch et Bloom, 1960 ; Moore et coll., 1963 ; Cup et Thomas, 1964 ; Edmunds et coll., 1964 ; Rotem et Cohen, 1966).

Pour les pays semi-arides, l'effet exercé sur le microclimat par l'irrigation de surface n'est pas significatif d'un point de vue phytopathologique (Rotem et Cohen, 1966 et Rotem et coll., 1968).

Les urédiniospores de la rouille du mûrier sont portées par voie aérienne et n'ont pas nécessairement besoin d'eau pour leur dispersion. La dispersion se produisant au moment où les feuilles sont couvertes d'humidité, ce qui est un avantage pour le pathogène. L'inoculum éliminé des feuilles, des plus hautes aux plus basses, par un légère bruine ou par des traces de pluie augmentent l'infestation et sa sévérité (Prasad, 1994). Une source supplémentaire d'humidité, en particulier la rosée et le brouillard au moment où les spores sont dispersées, joue un rôle important dans la sévérité de la maladie. Les bourgeons s'ouvrent habituellement 16 ± 4 jours après la taille des branches. Bien que la pénétration et l'établissement du pathogène de la rouille se produise sur les premières feuilles

moyennes tendres, l'apparition de pustules se fait à partir de la 5^{ème} feuille. La sévérité de la maladie augmente des dernières feuilles tendres (6-7^{ème} feuilles) aux plus grossières (15-17^{ème} feuilles) jusqu'aux vieilles feuilles (18-20^{ème} feuilles). Une image claire de la maladie peut être visualisée sur des feuilles d'une branche âgée de 55 ± 5 jours à partir du bourgeonnement. Sur des feuilles d'une branches âgée de 65 ± 5 jours, il y'a nettement plus de pustules (Prasad, 1994).

La feuille à peine déployée reste intacte sur la branche jusqu'à 45 ± 5 jours dans un système de puits irrigués dans les conditions en S1, S2, S3, S4 et S5.

Un facteur qui a profondément affecté le microclimat de la récolte de mûrier est la densité du feuillage sous espacement étroit. Cela détermine largement le taux auquel l'humidité est maintenue au niveau du sol, laquelle provient de la rosée, de la pluie, de l'irrigation etc. Habituellement, le cycle d'une journée sèche et d'une nuit humide de rosée, avec des températures diurnes importantes et de longues périodes d'humidité ont une incidence sur la sévérité de la rouille (Prasad, 1994).

Pour un système de plantation de mûrier de 60×23 cm, la densité des plants est élevée, ce qui influence le microclimat, en particulier l'humidité autour des plants. Cela favorise la production d'urédiniospores en grand nombre. La distance entre les plants est très étroite et cela permet la propagation des spores et leur établissement. Les urédiniospores de *Peridiopsora mori* germent sur les feuilles avec un taux d'humidité de $83 \pm 8\%$ et une température de 2 à 22°C, avec une faible luminosité ou même dans le noir complet. Ces conditions prédominent lors de la mousson et des saisons hivernales. Donc, la maladie de la rouille apparait de manière sévère en hiver.

Les résultats montrent qu'une augmentation significative de la sévérité de la rouille va de paire avec un accroissement de la densité des plants.

Des observations similaires ont été faites sur le pourrissement de la tige du sorgho (Patil et coll., 1982 et Pande, 1989).

Lors de l'étude sur l'infestation par la rouille galeuse des plantations de pins pour différentes ouvertures des forêts (espacements), il a été remarqué que l'incidence de la rouille sur l'arbre varie en fonction de différentes ouvertures (espacements) due aux différences microclimatiques (Blenis et Bernier, 1986). Il y'a une tendance à l'augmentation de la fréquence d'infestation avec la diminution des espaces ouverts dans les espacements étroits. L'incidence de la maladie de la rouille du café est plus élevée là où la densité foliaire est importante (Block, 1962). Les urédiniospores de *Hemeleia vastatrix* ne germent pas sous un fort ensoleillement, mais plutôt sous des lumières faibles lors d'un temps nuageux. Une situation similaire a été notée pour les urédiniospores de la rouille chez le mûrier. Les vers à soie sont de gros mangeurs de feuilles moyennes et grossières lors du 3^{ème} au 5^{ème} âge larvaire, tandis que les jeunes vers à soie (chawki) sont nourris de premières feuilles moyennes et tendres (i.e. 1^{ère} feuille jusqu'à la 5^{ème} en partant du haut de la branche) pendant 10 jours. Les vers à soie mangent les feuilles saines avec un contenu en eau élevé plutôt que les feuilles infestées et comparativement plus sèches. En mangeant des feuilles infestées, non seulement les feuilles sont gaspillées mais la qualité et la quantité des cocons produits sont affectées. Donc, nourrir les vers à soie de feuilles saines ou peu infestées est préférable.

Le taux de masse foliaire par rapport au bois chez le mûrier varie de 50:50 à 60:40 sans tenir compte des espacements. Le poids moyen des feuilles chez la variété M-5 par plant dans des conditions d'irrigation est de 150-175 g chez S1 ; 250-275 g chez S2 ; 300-350 g chez S3 ; 350-400 g chez S4 et 400-475 g chez S5.

Le feuillage des plants S4 et S5 est vert foncé, tanné avec un contenu en eau plus important et de bonne qualité. Les pratiques d'interculture sont plus simples et moins chères, des cultures intercalées d'"engrais vert" peuvent être mises en place avec un espacement plus grand. Dans les plantations où l'espacement est plus important, les rayons du soleil ont un rôle de désinfectant naturel et l'humidité entre les rangs et au niveau de la foliosphère inférieure est réduite (moins de 60 %), créant alors une atmosphère peu positive pour les phytopathogènes, tout cela résultent en une plus faible sévérité de la maladie.

Pour les plants à espacement faible la feuille devient jaune beaucoup plus tôt et la sévérité de la maladie est plus importante que dans les grands espacements (Prasad, 1994).

Les espacements de 120 × 60 cm et 90 × 90 cm permettent non seulement de contrôler la maladie de la rouille mais aussi de réaliser une culture intercalée et d'autres pratiques agronomiques. Une plantation de mûriers espacée est donc recommandée aux exploitants.

CONCLUSION

Le pathogène *Peridiopsisora mori* (Barclay) Prasad et coll., cause la maladie de la rouille sur les feuilles de mûriers. Les urédiniospores sont les seuls propagules en cause pour la propagation de la maladie. La sévérité de la maladie de la rouille est élevée dans les plantations denses. La maladie de la rouille peut être réduite d'une manière significative en diminuant la densité des plantations et en espaçant les mûriers à 90 × 90 et 120 × 60 cm (distances entre les rangs × distance entre les plants d'un même rang). Dans les plantations espacées, les pratiques d'interculture sont plus faciles et économiques et s'accompagnent d'une réduction de travail. Les rayons du soleil atteignent le sol entre les plants où l'espacement est plus grand et réduisent ainsi l'humidité, cela créent des conditions microclimatiques défavorables pour l'accroissement de la population du phytopathogène. Cela résulte en une réduction des maladies foliaires. L'idéal serait donc d'avoir un espacement plus important pour la bonne croissance les plants de mûrier

ACCUMULATION OF CERTAIN ORGANIC METABOLITES IN DIFFERENT MULBERRY GENOTYPES DURING NaCl SALINITY

S. SHAIK MOHAMED ANAS* & M. VIVEKANANDAN

Department of Biotechnology School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirappalli - 620 024, Tamilnadu, India.

Five different mulberry genotypes (Tr4, Tr10, Mysore Local, Kosen and MR2) were grown in hydroponics containing different strength of NaCl (10 to 30 mM) whose EC values ranged from 2.7 to 7.9 mS / cm, with a pH value of 7.0 for critical analysis of accumulation of organic metabolites during NaCl salinity. In the analysis of a few osmotins, striking increases in glycine betaine and proline were observed in the leaves of Tr4 and Tr10 suggesting that the two genotypes may be saline more tolerant than the others. The fact that proline alone increases in the roots of the most of the genotypes, while glycine betaine increases in the leaves of Tr4 and Tr10, in glycine betaine against NaCl concentrations possibly indicates that the stress factor is felt by the roots and then transmitted to the shoot, where the responses to the stress signals are possibly expressed. Thus it becomes evident that in the leaves certain genes are up - regulated in response to NaCl stress. It is also evident that shoot and root respond differently to salinity. At this juncture, it may be worthwhile to point out that roots accumulate more phenols than the leaves under saline condition.

Keywords: Sodium chloride, mulberry, glycine betaine, polyols, saline tolerance.

INTRODUCTION

Salinity is a serious problem causing considerable reduction in the agronomic potential especially in the newly irrigated arid and semi - arid regions. In recent years, major efforts to overcome this problem have been directed towards the development of crop plants tolerant to salinity. Salinity induces alterations in plant metabolism that affect plant growth and development in a complex way. The response can be divided into two categories, one pertaining to qualitative and quantitative changes in macromolecule synthesis and the other, to synthesis of small osmoprotectant molecules, e.g. proline, polyols, glycine betaine, sugar and sugar alcohols, causing significant increase in their concentration. The best characterized biochemical response of plant cells to osmotic stress is the accumulation of organic osmolytes, most commonly proline and betaine (Mc Cue and Hanson, 1990).

Mulberry is a tree of great value in sericulture industry because the foliage constitutes the chief food for the mulberry silkworm *Bombyx mori*. Information on the salt tolerance of mulberry genotypes is lacking, especially at early growth stages (Shaik Mohamed Anas and Vivekanandan, 1994). Such studies will facilitate the evaluation of relative performance and characterization of the mechanisms contributing to saline tolerance in mulberry. The objective of this study was to examine the effect of different levels of salinity on organic metabolites of leaves and roots.

* Corresponding Author: P.O. Box 2623, Abu Dhabi, UAE

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted during 1994 - 96 in the laboratory of Biotechnology, School of Life Sciences (Sericulture), Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Tamil Nadu, India. The cuttings of different mulberry genotypes (Tr4, Tr10, Mysore Local, Kosen and MR2) of 15 cm length with 4 to 5 live buds were prepared (Krishnaswamy, 1978) and planted with the basal 'chisel' cut end dipped into the experimental solution in plastic culture trays (28 × 9 cm). The standard culture solution was prepared following the method of Hewitt (1966). The pH of the solution was adjusted to 7.0 to which NaCl was added (10 to 30mM) (2.7 to 7.9 mS/cm) to give solutions of different strength. The culture solution without NaCl served as the control. The culture solution was changed at 3 days intervals. The cuttings of mulberry were raised in hydroponics under light intensity up to 600 $\mu\text{E m}^{-2} \text{S}^{-1}$ with a maximum temperature of $30 \pm 1^\circ\text{C}$ and a relative humidity of about $60 \pm 5\%$. Leaves and roots of the 60 - day old saplings were used for analysis. Proline was assayed according to the method of Bates *et al* (1973). Glycine betaine and polyols were assayed following the methods of Speed and Richardson (1968) and Bok and Demain (1977) respectively.

RESULTS

The levels of leaf proline are indicated in Fig 1(a). In Tr4 and Tr10, the content of proline increased by about three - fold at 30 mM NaCl compared to the control. The increase in free proline in MR2 is also considerable. In Kosen and Mysore Local no induction of proline occurred. The levels of glycine betaine are indicated in Fig 1(b). In all the genotypes glycine betaine induction was observed and more significantly in genotypes like Tr4 and Tr10. As regards polyols, the induction pattern was almost similar in most of the genotypes (Fig 1(c)).

Similarly, the effects of NaCl on the above compounds in roots were also investigated, since the root system is the one which grows and gets in contact with salt solution directly. In Fig 2 (a), the contents of proline in the roots of different genotypes are indicated. It is evident that in Tr4 and Tr10 induction of proline occurred at 30mM NaCl, whereas in all other genotypes the proline level increased right from 10 to 30mM NaCl steadily. Regarding glycine betaine except in Tr4 and Tr10, marginal to significant differences were obtained. No striking differences could be observed in other genotypes (Fig 2 (b)). Regarding polyols, quite strangely enough, there was a significant reduction at all concentrations of NaCl (Fig 2 (c)). In Mysore Local the reduction was very significant.

DISCUSSION

Since osmotins such as proline, glycine betaine and polyols are reported to play a vital role in stress tolerance of many higher plants (Delauney and Verma, 1993; Gurjar and Roy, 1994; Doreus and Vivekanandan, 1996), their levels were investigated in the five mulberry genotypes. The levels of proline, glycine betaine and polyols in the leaves of the different genotypes are indicated in Fig 1. The contents of proline, glycine betaine are shown to increase significantly in Tr4 and Tr10 followed by MR2. In the levels of polyols, no significant difference could be observed among the genotypes. As regards roots, the content of proline was found to increase at all levels of treatment. In glycine betaine no significant change was observed. On the other hand, the levels of polyols were always found to be lower in roots. It appears that leaves and roots respond quite differently in the storage of osmotins; the leaves tending to accumulate more proline and glycine betaine, whereas in roots proline alone was found to accumulate. Although root is the organ directly exposed to salinity, it is rather strange that roots did not respond to these changes. The shoot portion of any plant subjected to stress conditions is known to accumulate different kinds of osmotins such as proline (*Eruca sativa*, Ashraf, 1994); *Coriandrum sativum*, Zidan, 1995), glycine betaine (*Cicer arietinum*, Varshney and

Fig. 1 (a)

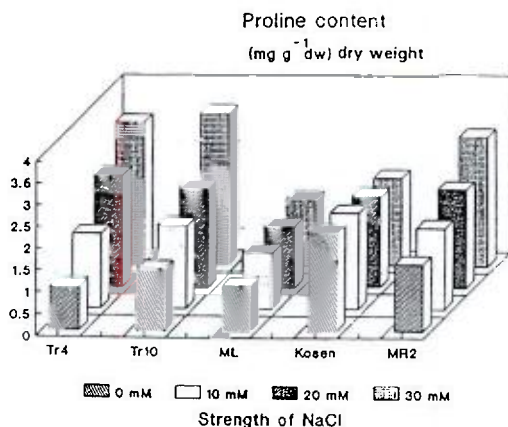


Fig. 1 (b)

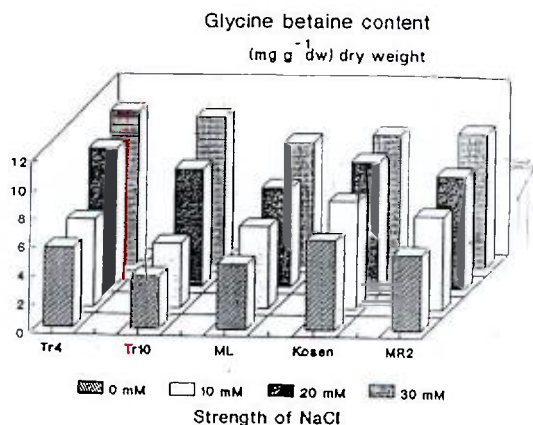


Fig. 1 (c)

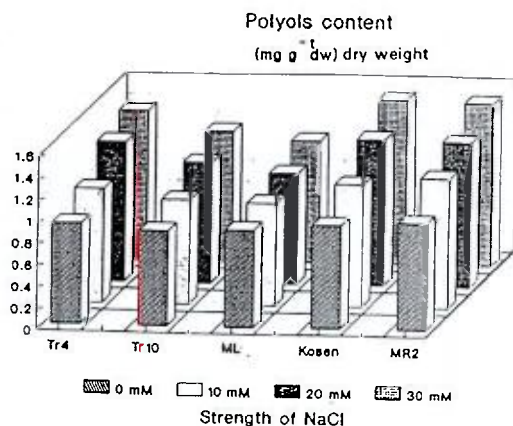


Fig 1 (a, b & c). The effects of NaCl salinity (0 to 30 mM) on the levels of leaf proline, glycine betaine and polyols in five mulberry genotypes grown in hydroponics at room temperature ($30 \pm 1^\circ \text{C}$).

60 - day old saplings were used for analysis.

The data are the mean of three different experiments with SEM of ± 0.01 .

Fig. 1 (a). Proline content / Teneur en proline

Fig. 1 (b). Glycine betaine content / Teneur en bétaine glycine.

Fig. 1 (c). Polyols content / Teneur en polyols.

Fig 1 (a, b & c). Les effets de la salinité NaCl (0 à 30mM) sur les teneurs des feuilles en proline, en bétaine glycine et en polyols, pour cinq génotypes de mûrier cultivés hydroponiquement à température ambiante ($30 \pm 1^\circ \text{C}$).

Des boutures de 60 jours ont été utilisées pour l'analyse. Les données représentent la moyenne de trois expériences différentes avec SEM de ± 0.01 .

Fig. 2 (a)

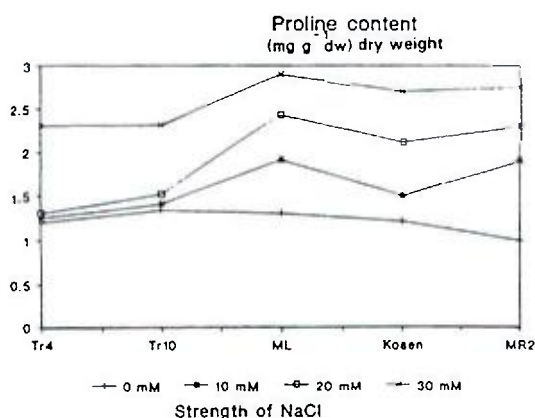


Fig. 2 (b)

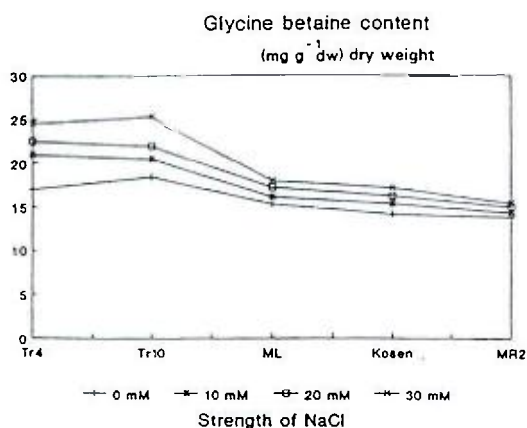


Fig. 2 (c)

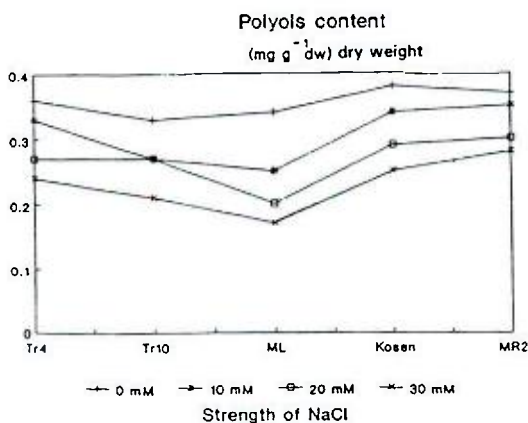


Fig. 2 (a, b & c). The effects of NaCl salinity (0 to 30 mM) on the levels of root proline, glycine betaine and polyols in five mulberry genotypes grown in hydroponics at room temperature ($30 \pm 1^\circ \text{C}$).

60-day old saplings were used for analysis. The data are the mean of three different experiments with SEM of ± 0.01 .

Fig 2 (a, b & c). Les effets de la salinité NaCl (0 à 30mM) sur les teneurs des racines en proline, en bétaine glycine et en polyols, pour cinq génotypes de mûrier cultivés hydroponiquement à température ambiante ($30 \pm 1^\circ \text{C}$).

Des boutures de 60 jours ont été utilisées pour l'analyse. Les données représentent la moyenne de trois expériences différentes avec SEM de ± 0.01 .

Sangeettha, 1992; *Salvadora persica*, Joshi *et al.*, 1993) and polyols (*Mesembryanthemum crystallinum*, Paul and Cockburn, 1989).

The accumulation of osmotins such as glycine betaine has been reported in halophytes, semi-resistant glycophytes and sensitive glycophytes (Storey and Wyn Jones, 1977). Glycine betaine has been reported to improve salinity tolerance in barley and maize (Grumet and Hanson, 1986; Rhodes *et al.*, 1989). In highly salt tolerant grasses like *Spartina* and *Distichlis*, betaine levels are reported to exceed 40 μ mol / g fw, whereas salt sensitive grass species such as *Zea mays* exhibits fairly a low capacity for betaine accumulation (Rhodes *et al.*, 1987). Probably in mulberry proline and glycine betaine play a significant role in stress protection in view of polyols showing little or no significant difference in its levels. In view of the striking increase in glycine betaine and proline in the leaves of Tr4 and Tr10, they may be considered to be more saline tolerant than the other genotypes. The fact that proline increases in the roots of most of the genotypes with a complete reduction in polyols and little or no difference in glycine betaine indicates that the stress factor felt by roots is transmitted to the shoot where the responses to the stress are possibly largely expressed. Thus, it appears that in leaves certain genes are up-regulated in response to NaCl stress. It is also evident that responses of shoot and root differ in response to salinity (Lin and Kao, 1995).

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial assistance provided by the Central Silk Board, Government of India, Bangalore in carrying out the work is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- ASHRAF M. (1994) Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. *Biologia Plantarum*, 36 (2), 255 - 259.
- BATES L. S., WALDRON R. P., TEARE I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39, 205 - 207.
- BOK S. H., DEMAINE A. L. (1977) An improved colorimetric assay of polyols. *Anal Biochem.*, 81, 18 - 20.
- DELAUNEY A. J., VERMA D. P. S. (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4 (2), 215 - 223.
- DORCUS D., VIVEKANANDAN M. (1996) Exploitation of Mulberry genotypes for drought resistance potential. *Sericologia* (in press).
- HEWITT E. J. (1966) The composition of the nutrient solution. p.1990. In *Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal Bucks, England.
- GRUMET R., HANSON A. D. (1986) Genetic evidence for an osmoregulatory function of glycine betaine accumulation in barley. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13, 353 - 364.
- JOSHI A. J., KRISHNAKUMAR M., MALI B. S. (1993) Seasonal changes in proteins, amino acids and minerals in *Salvadora persica* L. with reference to saline habitats. *Indian J. Plant Physiol.* Vol. XXXVI., 3, 202 - 204.
- KRISHNASWAMY S. (1978) Mulberry cultivation in South India. CSR & TI Bulletin No. 1, Mysore, India.
- LIN C. C., KAO C. H. (1995) NaCl stress in rice seedlings: effects of L - proline, glycine betaine, L and D asparagine on seedling growth. *Biologia Plantarum*, 37 (2), 305 - 308.
- MC CUE K. F. & HANSON A. D. (1990) Drought and salt tolerance towards understanding and application. *Tibtech.*, 8, 358 - 362.
- PAUL M. J., COCKBURN W. (1989) Pinitol, a compatible solute in *Mesembryanthemum crystallinum* L. *J. Exp. Bot.*, 40, 1093 - 1098.

- RHODES D., HANDA S. (1989) Amino acid metabolism in relation to osmotic adjustment in plant cells. pp. 41 - 62. In Biochemical and physiological mechanisms associated with environmental stress tolerance (Cherry, J. H. ed.) Springer - Verlag, Berlin.
- RHODES D., RICH P. J., MYERS A. C., RUETER C. C., JAMIESON G. C. (1987) Determination of betaines by fast atom bombardment mass spectrometry. Identification of glycine betaine deficient genotypes of *Zea mays*. Plant Physiol., 84, 781 - 788.
- SHAIK MOHAMED ANAS S., VIVEKANANDAN M. (1994) Evaluation of salinity tolerance in mulberry varieties by exploiting rooting potential. Sericologia, 34 (2), 311 - 321.
- SPEED D., RICHARDSON M. (1968) J. Chromatog., 35, 497.
- STOREY R., WYN JONES R. G. (1977) Quaternary ammonium compounds in plants in relation to salt resistance. Phytochemistry., 16, 447 - 453.
- VARSINEY K. A., SANGEETA A. (1992) Accumulation of certain organic metabolites in chickpea during salt stress. Indian J. Plant Physiol. Vol. XXXIV., 3, 202 - 204.
- ZIDAN M. A., ELEWA M. A. (1995) Effect of salinity on germination, seedling growth and some metabolic changes in four plant species (*Umbelliferae*). Indian J. Plant Physiol. Vol. XXXVIII., 1, 57 - 61.

ACCUMULATION DE CERTAINS METABOLITES ORGANQUES CHEZ DIFFERENTS GENOTYPES DE MURIER SOUMIS A UNE SALINITE EN NaCl

S. SHAIK MOHAMED ANAS* & M. VIVEKANANDAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences - Bharathidasan University -
Tiruchirappalli - 620 024, Tamilnadu, Inde.

Cinq génotypes de mûrier différents (Tr4, Tr10, Mysore Locale, Kosen et MR2) ont été cultivés en milieu hydroponique contenant des concentrations différentes de NaCl (de 10 à 30mM) dont les valeurs de conductivité électrique (EC) sont comprises entre 2,7 et 7,9 mS / cm, à un pH de 7,0. Ces cultures ont été pratiquées pour l'analyse de l'accumulation de métabolites organiques lors de salinité NaCl. L'analyse de quelques osmotines a montré des augmentations considérables en glycine bêtaïne et en proline dans les feuilles de Tr4 et Tr10, ce qui suggère que ces deux génotypes pourraient être plus tolérants vis à vis de la salinité que les autres. Le fait que seule la proline augmente dans les racines de la plupart des génotypes et que cette augmentation soit accompagnée d'une réduction totale des polyols et de peu ou pas de variations dans la glycine bêtaïne aux diverses concentrations de NaCl, pourrait indiquer que le facteur stress se situe au niveau des racines, puis est transmis à la tige, là où les réponses aux signaux de stress sont probablement exprimées. Il devient alors évident que dans les feuilles, certains gènes sont activés en réponse au stress du NaCl. Il est également évident que les tiges et les racines ont des réponses différentes vis à vis de la salinité. A ce propos, il faut noter que dans des conditions de salinité, les racines accumulent beaucoup plus de phénols que les feuilles.

INTRODUCTION

La salinité est un problème sérieux qui provoque des réductions considérables du potentiel agronomique, particulièrement pour les régions nouvellement irriguées et semi - arides. Au cours des dernières années, les principaux efforts pour venir à bout de ce problème ont été orientés vers le développement de cultures tolérantes vis à vis de la salinité. La salinité induit des altérations du métabolisme chez les plantes, ce qui affecte leur croissance et leur développement d'une manière complexe. La réponse peut être divisée en deux catégories, l'une concernant les changements qualitatifs et quantitatifs dans la synthèse des macromolécules et l'autre concernant la synthèse de petites molécules à protection osmotique, à savoir la proline, les polyols, la glycine bêtaïne, les sucres et les alcools dont la concentration augmente de manière significative. La meilleure réponse biochimique caractérisée des cellules végétales au stress osmotique, est l'accumulation d'osmolytes organiques, les plus communs étant la proline et les bêtaïnes (Mc Cue & Hanson, 1990).

Le mûrier est un arbre d'une grande valeur pour l'industrie séricicole parce que son feuillage constitue la nourriture principale du ver à soie du mûrier *Bombyx mori*. Les informations sur la tolérance des génotypes de mûrier vis à vis de la salinité manquent et plus particulièrement, celles concernant les premiers stades de croissance (Shaik Mohamed Anas & Vivekanandan, 1994). De

* Auteur à qui la correspondance doit être adressée : P. O. Box 2623, Abu Dhabi, UAE.

telles études faciliteraient l'évaluation de la performance relative et de la caractérisation des mécanismes qui contribuent à la tolérance saline du mûrier. L'objet de cette étude est donc d'examiner l'effet des différents niveaux de salinité sur les métabolites organiques des feuilles et des racines.

MATERIELS ET METHODES

Les expériences ont été menées entre 1994 et 1996 dans le laboratoire de Biotechnology, School of Life Sciences (Sericulture), Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Tamil Nadu, Inde. Des boutures de différents génotypes de mûrier (Tr4, Tr10, Mysore Locale, Kosen et MR2) de 15 cm de longueur et comprenant 4 à 5 bourgeons vivants ont été préparées (Krishnaswamy, 1978) et plantées avec la partie biseautée trempée dans la solution expérimentale des plateaux de cultures en plastique (28 × 9 cm). La solution standard de culture a été préparée selon la méthode de Hewitt (1966). Le pH de la solution a été ajusté à 7,0, et du NaCl a été ajouté (10 à 30 mM) (2,7 à 7,9 mS / cm) afin de donner des solutions de concentrations différentes. La solution de culture sans NaCl fut utilisée comme solution témoin. La solution de culture a été renouvelée tous les 3 jours. Les boutures de mûrier ont été cultivées dans des conditions hydroponiques sous une intensité de lumière de $600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, une température maximale de $30 \pm 1^\circ \text{C}$ et une humidité relative d'environ $60 \pm 5 \%$. Les feuilles et les racines des jeunes plants âgés de 60 jours ont été utilisées pour l'analyse. La proline a été évaluée selon la méthode de Bates et coll. (1973). La bétanine a été évaluée selon la méthode de Speed et Richardson (1968) et les polyols, selon celle de Bok et Demain (1977).

RESULTATS

Les niveaux de proline dans les feuilles sont indiqués sur la Fig. 1a. Pour Tr4 et Tr10, la teneur en proline est multipliée par trois par rapport aux témoins à 30 mM de NaCl. L'augmentation en proline libre pour MR2 est également considérable. Pour Kosen et Mysore Locale, aucune augmentation de proline n'est visible. Les niveaux de bétanine sont indiqués en Fig. 1b. L'augmentation de bétanine a été observée chez tous les génotypes et de manière plus significative chez les génotypes tels que Tr4 et Tr10. En ce qui concerne les polyols, le profil d'induction est presque similaire pour la plupart des génotypes (Fig. 1c).

Les effets du NaCl sur les composés dont il est question ci-dessus, à l'intérieur des racines ont également fait l'objet d'une étude, étant donné que le système des racines est celui qui croît et qui est en contact direct avec la solution saline. En Fig. 2a, sont indiquées les teneurs en proline à l'intérieur des racines des différents génotypes. Il est clair que pour Tr4 et Tr10 l'augmentation de proline se manifeste à 30 mM de NaCl, alors que pour tous les autres génotypes, le niveau de proline augmente de manière régulière, de 10 à 30 mM de NaCl. En ce qui concerne la bétanine, des différences marginales à significatives ont été obtenues, excepté pour Tr4 et Tr10. Aucune différence marquante n'a été observée chez les autres génotypes (Fig. 2b). En ce qui concerne les polyols, il est surprenant de constater une réduction significative pour toutes les concentrations de NaCl (Fig. 2c). Pour Mysore Locale, la réduction est particulièrement significative.

DISCUSSION

Puisque les osmotines telles que la proline, la bétanine et les polyols sont connues pour jouer un rôle vital dans la tolérance au stress de beaucoup de plantes supérieures (Delauney & Verma, 1993 ; Gurjar & Roy, 1994 ; Dorcus & Vivekanandan, 1996), leurs niveaux ont été mesurés pour les cinq génotypes de mûrier. Les niveaux de proline, de bétanine et de polyols dans les feuilles des différents génotypes sont indiqués en Fig. 1. Les teneurs en proline et en bétanine augmentent de façon significative chez Tr4 et Tr10, suivi de MR2. En ce qui concerne les niveaux de polyols, aucune différence significative n'a été observée parmi les génotypes. A l'intérieur des racines, la teneur en

proline augmente à tous les niveaux du traitement. Pour la bêtaïne, aucun changement significatif n'a été observé. Par ailleurs, les niveaux des polyols sont toujours plus bas à l'intérieur des racines. Il apparaît donc que les feuilles et les racines réagissent assez différemment en ce qui concerne le stockage des osmotins : les feuilles tendent à accumuler plus de proline et de glycine bêtaïne, tandis que pour les racines, seule la proline tend à s'accumuler. Bien que la racine soit l'organe directement exposé à la salinité, il est assez étrange que les racines ne réagissent pas à ces changements. Les rejets de toute plante sujette à des conditions de stress, sont connus pour accumuler différentes sortes d'osmotins tels que la proline (*Eruca sativa*, Ashraf, 1994 ; *Coriandrum sativum*, Zidan, 1995), la glycine bêtaïne (*Cicer arietinum*, Varshney & Sangeeta, 1992 ; *Salvadora persica*, Joshi et coll., 1993) et des polyols (*Mesembryanthemum crystallinum*, Paul & Cockburn, 1989). L'accumulation d'osmotins tels que la glycine bêtaïne a été observée chez les halophytes, ainsi que chez des glycophytes semi - résistantes et des glycophytes sensibles (Storey & Wyn Jones, 1977).

La glycine bêtaïne améliore la tolérance vis à vis de la salinité chez l'orge et le maïs (Grumet & Hanson, 1986 ; Rhodes et coll., 1989). Pour des herbes à tolérance élevée au sel, telles que *Spartina* et *Distichlis*, les niveaux de bêtaïne excèdent $40 \mu\text{M/g}$ de poids frais, alors que des plantes sensibles au sel telles que *Zea mays* présentent une assez faible capacité pour l'accumulation de la bêtaïne (Rhodes et coll., 1987). Il est probable que chez le mûrier, la proline et la glycine bêtaïne jouent un rôle significatif dans la protection contre le stress, les polyols ne variant pas ou peu. Si l'on considère l'augmentation considérable en glycine bêtaïne et en proline dans les feuilles de Tr4 et Tr10, ces deux espèces peuvent être considérées comme étant plus tolérantes à la salinité que les autres génotypes. La proline augmente dans les racines de la plupart des génotypes avec une réduction totale des polyols et peu ou pas de différence en glycine bêtaïne. Ceci indique que le facteur stress ressenti par les racines est transmis à la plantule où les réponses au stress sont largement exprimées. Ainsi il apparaît que dans les feuilles, certains gènes sont régulés en réponse au stress dû au NaCl. Il est également clair que les réponses de la plantule et de la racine diffèrent en réponse à la salinité (Lin & Kao, 1995).

CHANGES IN PHYSIO-BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MULBERRY LEAVES (*M. ALBA* L.) VAR S1 INFECTED BY SOOTY MOULD

C. DAS, M. SETUA, S. CHATTERJEE, T. SENGUPTA, K.K. DAS, S.M.H. QADRI
& B. SARATCHANDRA

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, Pin - 742101, Murshidabad,
West Bengal, India.

The sooty mould disease of mulberry impaired the water relations in host. The moisture percentage and relative water content in diseased leaves, the two indices of water status decreased gradually with an increase in sooty mould infestation with a concomitant increase in the water deficit percentage. Significant gradual loss of chlorophyll and some primary metabolites - soluble sugar and soluble protein while increase in the content of phenols was observed in diseased leaves which showed positive correlation with disease severity ($r = 0.97$). The physiological parameters such as photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate were adversely affected by sooty mould infestation and exhibited strong negative correlation with the disease severity ($r = 0.98$, $r = 0.83$ and $r = 0.65$). All these factors inflicted by the disease contributed for reduction in leaf yield.

Keywords: *Morus alba*, sooty mould, photosynthesis, stomatal conductance, transpiration, phenol

INTRODUCTION

Sooty mould, a disease caused by complex of fungal species of *Chaetothyrium* and *Curvularia*, inflicts severe loss to mulberry leaf production in the sericultural zones of West Bengal particularly during November to January (Rao *et al.*, 1992). Disease is severe at temperature range of 19.18°C to 21.12°C and humidity prevailing between 68.50 % to 69.91 %. The characteristic symptoms of disease consisting of black velvety thickly interwoven mycelial mat exerts adverse effect on leaf quality as also quantity of the host plant. Information on extent of decrease in the leaf yield and its nutritive value in mulberry due to sooty mould is lacking. Therefore, present investigations were carried out to have better understanding the effects of sooty mould on some physiological and biochemical characters of mulberry in relation to leaf yield.

MATERIALS AND METHODS

The studies were conducted with mulberry variety S1 during winter, January 1994. The diseased leaves were grouped into six grades of 0-5 (where 0 = no disease; 1 = up to 10 %; 2 = above 10 % upto 25 %; 3 = above 25 % upto 50 %; 4 = above 50 % upto 75 %; 5 = above 75 %). Photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate were measured in the leaves of different grades *in situ* using Licor-6200 portable photosynthetic system at 10 to 11 am under a bright sunny day. Total chlorophyll, soluble protein, soluble sugar and phenol were estimated from 100 mg fresh leaf sample according to Arnon (1949), Lowry *et al.* (1951), Morris (1948), Bray & Thorpe (1954) respectively

using U-Vis spectrophotometer. Relative water content and leaf water deficit percentage were estimated according to Barrs and Weatherly (1962) and moisture content of the leaves were estimated using Metler moisture analyser. Ten replications per treatment were taken for each observation and data were analysed statistically. Regression equations were drawn for determination of interrelation between disease severity, total chlorophyll, phenol, sugar, protein content, transpiration rate, photosynthetic rate, stomatal conductance and leaf yield in mulberry.

RESULTS AND DISCUSSION

Biochemical parameters

Experimental results (Fig. 1) revealed that sooty mould infection brought a decrease in the content of chlorophyll (70 %) in all infected leaves but the rate of loss was highest (70 %) in maximum disease severity (100 %) which may be due to the destruction or inhibition of chlorophyll synthesis due to enhancement of chlorophyllase activity of the pathogen (Ghorpade and Joshi, 1980). Similar observations were recorded by Shree and Sullia (1988) in mildew infected leaves of mulberry. Significant reduction was obtained in total soluble protein (11.4 % to 48.2 %) as well as sugar (5.3 % to 49.9 %) with increase in disease severity (Table I). Reduction of soluble protein content may be due to utilisation of the protein by the pathogen at a faster rate for its multiplication (Samborski *et al.*, 1958). Similarly, decrease in sugar content is likely to be resulted following its utilisation by the pathogen (Chattopadhyay and Samaddar, 1980) or it may also be due to increased rate of respiration (Nema, 1983) or due to enhancement of synthesis of phenolics after infection (Sharma *et al.*, 1983). The total phenol content increased with the increase in the infection of foliage (Figure 1). The increase in phenol content (Figure 1) might arise from the glucosides by the activity of β glucosidase of either host or pathogen which are in confirmation with the findings of Farakas & Kiraly (1962).

Table I. Change in water status and biochemical parameters in mulberry due to sooty mould infestation.

Tableau I. Changements hydriques et dans les paramètres biochimiques dus à l'infestation par moisissure fuligineuse.

Disease severity %	Sugar (mg/g F.Wt.)	Protein (mg/g F.Wt.)	Moisture %	Relative water content %	Water deficit %
Sévérité de maladie %	Sucres (mg/g F.Wt.)	Protéine (mg/g poids frais)	Humidité %	Contenu relatif en eau	Déficit en eau %
0	53.267	20.533	77.700	76.200	22.333
10	50.467	18.200	76.300	74.667	24.533
25	48.033	16.767	72.267	73.133	26.900
50	40.800	15.333	65.967	69.900	29.233
75	32.267	14.333	59.167	68.767	33.300
100	26.700	10.633	55.433	65.800	36.333
CD at 5 %	1.402	0.703	1.825	1.927	1.002
DC at 5 %					

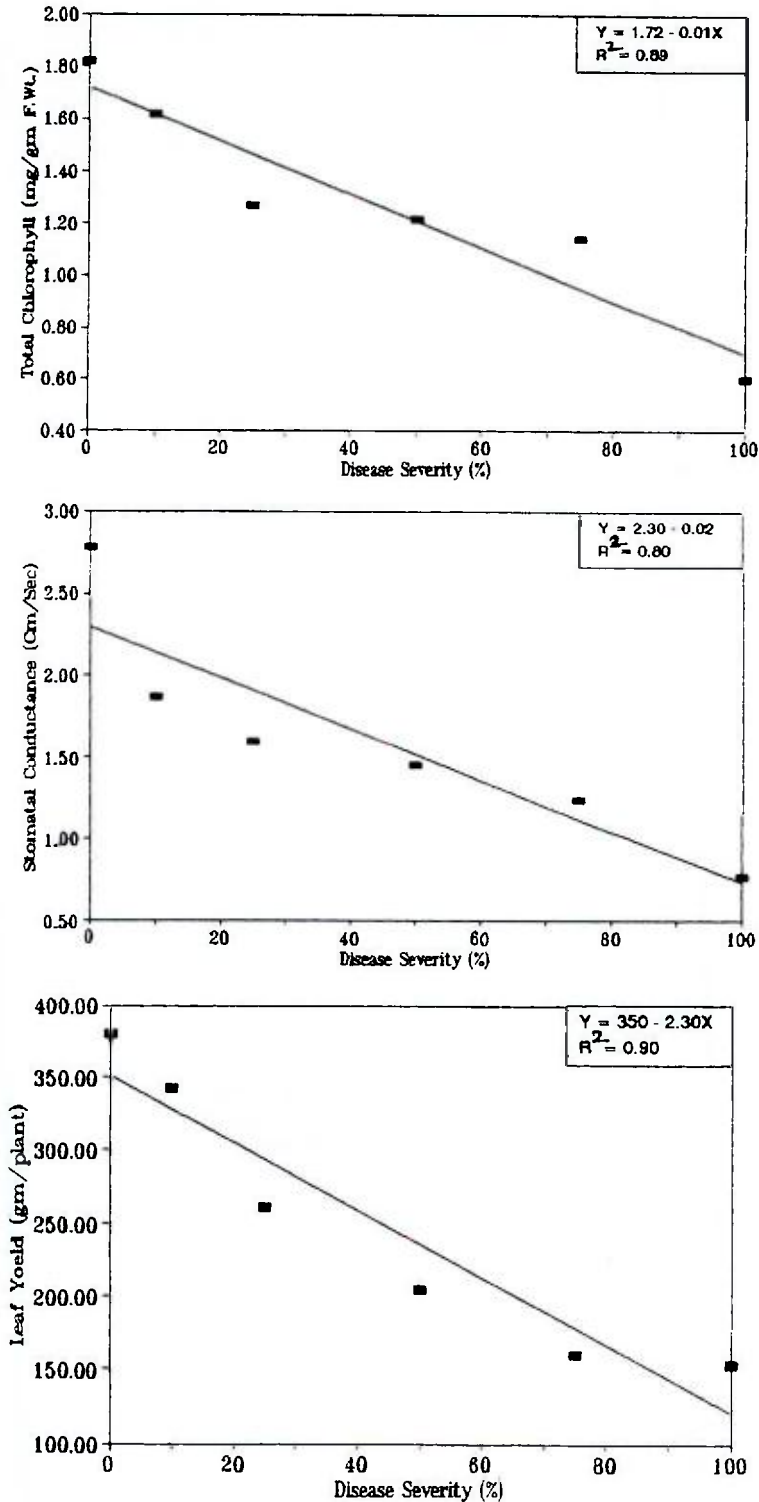


Figure 1. Effect of disease severity on leaf yield, total chlorophyll and stomatal conductance in mulberry.

Figure 1. Effet de la sévérité de la maladie sur le rendement en feuilles, le contenu en chlorophylle et la conductivité stomatique chez le mûrier.

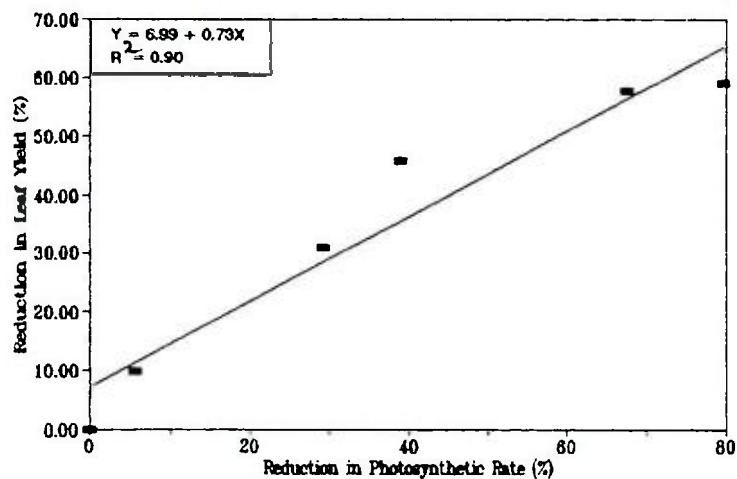
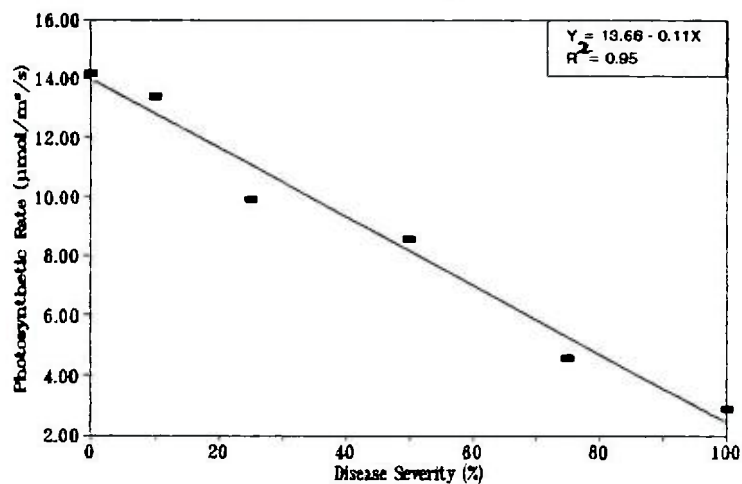
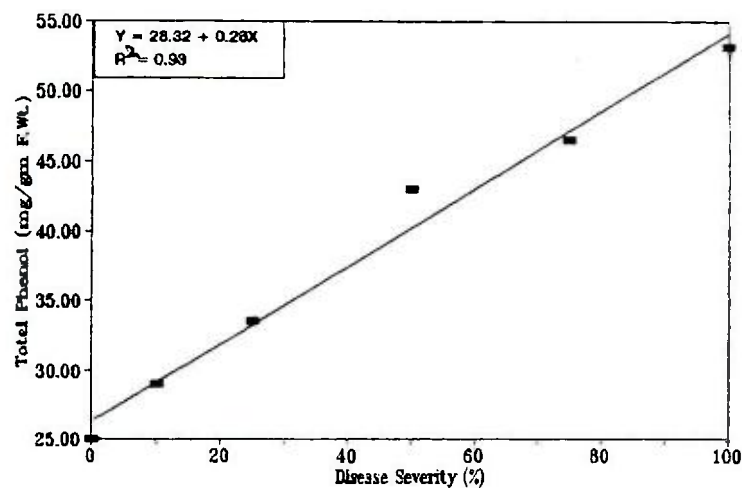


Figure 2. Effect of infection on photosynthetic rate, total phenol and reduction in leaf yield vis-à-vis reduction in photosynthetic rate.

Figure 2. Effet de l'infection sur le taux de photosynthèse, le contenu en phénols et la réduction du rendement en feuilles vis-à-vis de la réduction du taux de photosynthèse.

Physiological and yield parameters

A significant reduction in leaf yield (Figure 1), moisture content and relative water content (1.8% to 28.6 % & 2.1 % to 13.7 %) were observed in sooty mould infested leaves (Table I) supporting the findings of Das *et al.* (1994) in thrips infested leaves. Two factors contributed to the reduced water supply to the diseased leaves-infection reduced the fresh weight of infected shoot system or infection increases the resistance to water flow through the roots and stem. Reduction in the transpiration rate (10 % to 70 %) and stomatal conductance (31.3 % to 72.77 %) in diseased leaves were recorded (Figure 2) which may be due to the inhibition of stomatal opening by substances synthesised by the host in response to infection. Reduced water loss from the infected leaves makes more water available for an infected leaves on the same plant. On the other hand, higher leaf water potential may favour the development of the pathogen (Ayres, 1977) and leaf, to more widespread infestation. There was a significant decrease in the rate of photosynthesis at all the degree of disease infestations (Figure 2).

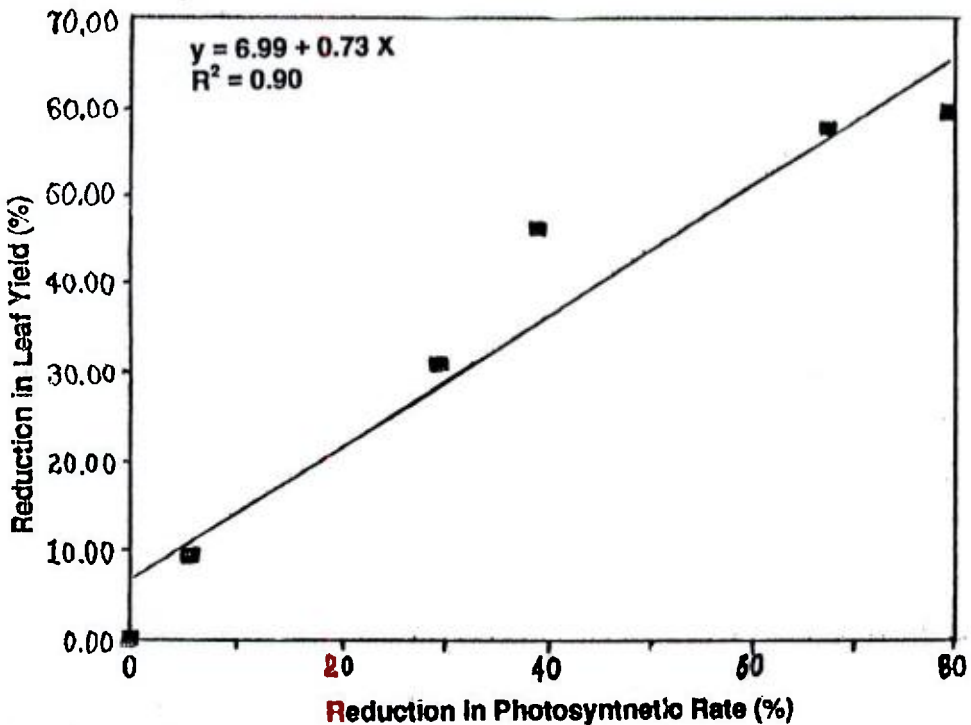


Fig. 3. Relationship between reduction in leaf yield and photosynthetic rate due to sooty mould infection.

Fig. 3. Relation entre la baisse du rendement en feuilles et le taux de photosynthèse dus à l'infestation par la rouille fuligineuse

All the major physiobiochemical parameters showed significant correlation with the disease severity, total chlorophyll, photosynthetic rate, leaf yield, stomatal conductance and transpiration rate have negative correlation, while total phenol had a strong positive correlation with disease severity (Figure 1 & 2). Photosynthetic rate assumed to be an important parameter for leaf yield (Figure 3).

- BARRS H.D., WEATHERLY P.E. (1962) A re-examination of the relative turgidity technique, for estimating water deficit in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15 413-428.
- BRAY H.G., THORPE W.V. (1954) Analysis of phenolic compounds of interest in metabolism. *Meth. Biochem. Anal.* 1 27-52.
- CHATTOPADHYAY A.K., SAMADDAR K.R. (1980) Effects of *Helminthosporium oryzae* infection and ophiobolin on the phenol metabolism of host tissues. *Phytopath. Z.* 98 193-22.
- DAS C., SHIVNATH, RAO K.M. (1994) An investigation of morphophysiological changes due to thrips infestation in mulberry (*M. alba* L.). *Geobiose* 21 (2) 109-113.
- FARAKAS G.L., KIRALY Z. (1962) Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease resistance. *Phytophysiology Z.* 44. 105-150.
- GHORPADE L.N., JOSHI G.V. (1980) Studies in photosynthesis in sugarcane, var co. 740 infected by Mosaic virus. *Indian Phytopath* 33. 33-37.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.K., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. chem.* 193. 265-275.
- MORRIS D.L. (1948) Quantitative determination of carbohydrates with Drey woods anthrone reagent *Science* 107. 254-255.
- NEMA D.K. (1983) Changes in sugars of apple due to *Alternaria alternate* infection. *Indian Phytopath.* 36. 626-629.
- RAO A., CHAUHAN S.S., CHAKRAVORTY S., SUBBA RAO G. (1992) A new report on the occurrence of *Chaetothyrium* and *Curvularia* fungi on mulberry. *Indian J. Seri.* 31 (1) 71.
- SAMBORSKI D.J., FORSYTH F.R., PARSON C. (1958) Metabolic changes in detached wheat leaves floated on benzimidazole and effect of those changes on rust reactions. *Can. J. Bot.* 36: 591-601.
- SHARMA S.G., NARAYAN R., LAL S., CHATURVEDI C. (1983) Role of phenolic compounds in resistance of maize to leaf blight caused by *Drechlera* state of *Cochliobolus heterostrephus*. *Indian Phytopath.* 36. 43-46.
- SHREE M.P., SULLIA S.B. (1988) Effect of mildew and mosaic infection on the chlorophyll content of mulberry. *Proc. Int. Cong. on Pl. phy.* 1.459-462; Feb. 15-2, 1988.

MODIFICATIONS DES PARAMETRES PHYSIO-BIOCHIMIQUES CHEZ LES FEUILLES DE MURIERS VAR SI (*M. ALBA* L.) INFESTEES PAR LA MOISSISURE FULIGINEUSE

C. DAS, M. SETUA, S. CHATTERJEE, T. SENGUPTA, K.K. DAS, S.M.H. QADRI &
B. SARATCHANDRA

Central Sericultural Research & Training Institute, Berhampore, Pin - 74210, Murshidabad, West Bengal, Inde.

La maladie de la moisissure altère les rapports en eau chez l'hôte. Les deux indices hydriques, l'humidité et le contenu relatif en eau diminuent graduellement avec la propagation de l'infestation de la moisissure fuligineuse avec une hausse concomitante du déficit en eau. On observe une perte en chlorophylle significative et en certains métabolites primaires (sucres et protéines solubles), tandis qu'augmente le contenu en phénol chez les feuilles infestées avec une corrélation positive en fonction de la sévérité de la maladie ($r = 0,97$). Les paramètres physiologiques tels que le taux de photosynthèse, la conductivité stomatique et le taux de transpiration, sont, au contraire, atteints par l'infestation de la moisissure fuligineuse et donnent de fortes corrélations négatives en fonction de la sévérité de la maladie ($r = 0,98$; $r = 0,83$ et $r = 0,65$). Tous ces facteurs infligés par la maladie contribuent à la réduction du rendement en feuilles.

INTRODUCTION

La moisissure fuligineuse, une maladie causée par des complexes d'espèces fongiques de *Chaetothyrium* et *Curvularia*, inflige une perte importante dans la production de feuilles de mûrier dans les zones séricicoles du Bengale Ouest, en particulier pendant les mois de novembre à janvier (Rae et coll., 1992). La maladie est sévère à des températures de 19,18°C et 21,12°C et une humidité entre 68,50 % à 69,91 %. Les symptômes caractéristiques de la maladie consistent en velours mycélien noir étroitement entremêlé qui exerce un effet néfaste sur la qualité de la feuille mais aussi sur la quantité des feuilles de la plante hôte. Des informations concernant la propagation de la baisse en rendement foliaire et en valeur nutritive du mûrier dus à la maladie fuligineuse font défaut. Les recherches présentes ont été menées afin de mieux comprendre les effets de la maladie fuligineuse sur certaines caractéristiques physiologiques et biochimiques du mûrier en rapport avec le rendement foliaire.

MATERIELS ET METHODES

Les études ont été menées à partir de la variété de mûrier SI pendant le mois de janvier 1994. Les feuilles infestées ont été classées en six groupes indexés de 0 à 5 (Où 0 = pas de maladie ; 1 = jusqu'à 10 % de maladie ; 2 = au-dessus de 10 % et jusqu'à 25 % ; 3 = au-dessus de 25 % jusqu'à 50 % ; 4 = au-dessus de 50 % et jusqu'à 75 % ; 5 = au-dessus de 75 %). Le taux photosynthétique, la conductivité stomatique et le taux de transpiration ont été mesurés sur les feuilles des différents groupes *in situ* avec le système photosynthétique Licor-6200, à 10 heures et 11 heures, lors d'une journée ensoleillée. Le contenu en chlorophylle, en protéines solubles, en sucres solubles et en phénols

a été estimé à partir de 100 mg d'un échantillon de feuilles fraîches selon Arnon (1949), Lowry et coll. (1951), Morris (1948), Bray & Thorpe (1954) respectivement, avec un spectrophotomètre Uv-Vis. Le contenu relatif en eau et le pourcentage du déficit en eau de la feuille ont été estimés selon Barrs et Weatherly (1962) et l'humidité des feuilles a été estimée avec l'analyseur d'humidité Metler. Dix répétitions par traitement ont été utilisées pour chaque observation et les données ont été analysées statistiquement. Des équations de régression ont été tracées pour déterminer l'interrelation entre la sévérité de la maladie, le contenu en chlorophylle, en phénol, en sucres, en protéines, le taux de transpiration, le taux photosynthétique, la conductivité stomatique et le rendement en feuilles du mûrier.

RESULTATS ET DISCUSSION

Paramètres biochimiques

Les résultats expérimentaux (Fig. 1) montrent que la moisissure fuligineuse fait décroître le contenu en chlorophylle (70 %) chez toutes les feuilles infestées mais le taux de perte est le plus élevé (70 %) lorsque la sévérité de la maladie est maximale (100 %) ce qui peut être dû à la destruction ou à l'inhibition de synthèse de chlorophylle due à une augmentation de l'activité chlorophyllase du pathogène (Ghorpade et Joshi, 1980). Des observations similaires ont été notées par Shree et Sullia (1988) en ce qui concerne les feuilles de mûrier infestées par le mildiou. Une réduction significative a été obtenue pour le contenu en protéines solubles (11,4 % à 48,2 %) ainsi que pour les sucres (5,3 % à 49,9 %) avec une augmentation de la sévérité de la maladie (Tableau I). La réduction du contenu en protéines solubles peut être due à l'utilisation de protéines par le pathogène à un taux plus rapide pour sa multiplication (Samborski et coll., 1958). De façon similaire, la baisse du contenu en sucres semble résulter de son utilisation par le pathogène (Chattopadhyay et Samaddar, 1980) ou cela peut être aussi dû à la hausse du taux de respiration (Nema, 1983) ou encore à la hausse des synthèses phénoliques après infestation (Sharma et coll., 1983). Le contenu en phénols augmente avec l'accroissement de l'infestation du feuillage (Figure 1). L'augmentation du contenu en phénols (Figure 1) peut provenir des glucosides par l'activité de la β glucosidase aussi bien de l'hôte que du pathogène ce qui confirme les travaux de Farakas & Kiraly (1962).

Paramètres physiologique et rendement

Une réduction significative du rendement en feuilles (Figure 1), du contenu en humidité et du contenu relatif en eau (1,8 % à 28,6 % et 2,1 % à 13,7 %) a été observée chez les feuilles infestées par la moisissure fuligineuse (Tableau I) ce qui confirme les résultats de Das et coll. (1994) en ce qui concerne les feuilles infestées par des thrips. Deux facteurs contribuent à la réduction de l'approvisionnement en eau des feuilles infestées : l'infestation réduit le poids des jeunes pousses infestées ou alors elle augmente la résistance à la propagation de l'eau dans les racines et les tiges. La réduction du taux de transpiration (10 % à 70 %) et de la conductivité stomatique (31,3 % à 72,77 %) pour les feuilles infestées (Figure 2) peut être due à l'inhibition de l'ouverture stomatale par les substances synthétisées par l'hôte en réponse à l'infection. La déperdition en eau, réduite chez les feuilles infestées laisse plus d'eau disponible pour les feuilles non infestées d'un même plant. D'un autre côté, un potentiel plus élevé en eau peut favoriser le développement du pathogène (Ayres, 1997) et mener à une progression de l'infestation. Une baisse significative apparaît dans le taux de photosynthèse à tous les degrés d'infestations de la maladie (Figure 2).

Tous les paramètres physiobiochimiques majeurs sont corrélés de manière significative avec la sévérité de la maladie. Le contenu en chlorophylle, le taux photosynthétique, le rendement en feuilles, la conductivité stomatique et le taux de transpiration sont corrélés négativement, tandis que le contenu en phénol est fortement corrélé positivement avec la sévérité de la maladie (Figure 1 & 2). Le taux photosynthétique semble être un paramètre important en ce qui concerne le rendement en feuilles (Figure 3).

EFFECT OF BLUE - GREEN ALGAE ON CHEMICAL AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF SALT - AFFECTED SOIL OF MULBERRY GARDEN, PRODUCTIVITY OF MULBERRY AND ITS ECONOMICS

P. C. BOSE* & S. K. MAJUMDER*

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

The efficacy of blue - green algae in reclaiming the salt - affected soil, improving its nutritional properties, increasing the productivity of mulberry and its economics was studied in the mulberry farm of CSR & TI, Mysore. Application of blue - green algae reduced the soil pH, electrical conductivity and exchangeable sodium considerably and resulted in an improvement of the nutritional status of the soil like organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and available potassium. It has also increased the mulberry leaf yield resulting in the reduction of cost of production.

Keywords: Salt - affected soil, blue - green algae, chemical properties, nutritional properties, mulberry yield.

INTRODUCTION

Around 7.0 million hectares of land are affected by salinity or alkalinity in India (Abrol and Bhumbra, 1971). If the soil is a salt - affected one, it should be corrected properly for the maximisation of growth and yield of mulberry. Efforts have been made by various workers to reclaim salt - affected soil by applying different amendments (Bose *et al.*, 1992; Gaul and Dargan, 1978; Duraisamy *et al.*, 1986). But, hardly any work has been done to reclaim the salt - affected soil by the use of blue - green algae (Hemant Kumar and Kaushik, 1989). Moreover, absolutely no work has so far been done regarding the reclamation of salt - affected soil of mulberry garden by the application of blue - green algae and its effect on mulberry leaf yield. As blue - green algae, besides the reclamation property, can fix elemental nitrogen (Venketaraman, 1981), liberate growth promoting substances (Gupta and Shukla, 1969) and improve the physical and chemical status of soil (Roychoudhury *et al.*, 1979). The present experiment was, therefore, undertaken to study the impact of blue - green algae in improving the chemical and nutritional properties of salt - affected soil and leaf yield of mulberry.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in a salt - affected area of the mulberry farm of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore. The soil of the experimental field was with a pH of 8.60, electrical conductivity (EC) was 0.682 dSm^{-1} and exchangeable sodium percentage (ESP) was 15.60.

* Present address: Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, India.

The nutritional parameters of the experimental soil were like organic carbon (i.e., 58% of total organic matter) 0.35%, total nitrogen (i.e., Organic, ammonical and nitrate forms of nitrogen) 0.032%, available phosphorus (i.e., a fraction of the soil phosphorus which could be correlated with field response of crops) 7.00 kg / ha and available potassium (i.e., a fraction of the soil potassium which could be correlated with field response of crops) 170.00 kg / ha. Two years' old mulberry (Kanva 2) was used as test crops in plots (4.5 m × 8.0 m) with a plant spacing of 0.9 m × 0.9 m adopting randomised block design with three replications. Nitrogen, phosphorus and potassium were applied at the rate of 300 kg / ha / yr, 120 kg / ha / yr and 120 kg / ha / yr respectively.

The blue - green algae (BGA) was made of a mixture of *Nostoc punctiforme*, *Westiellopsis prolifica*, *Tolypothrix ceylonica* and *Calothrix marchica* in equal proportions, received from Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India and was applied at the rate of 10 kg / ha, 20 kg / ha, 30 kg / ha, 40 kg / ha, 50 kg / ha, 60 kg / ha, 70 kg / ha, 80 kg / ha, 90 kg / ha and 100 kg / ha respectively as treatments. Blue - green algae was applied over the standing water in the field one week after pruning. The field is kept water - logged at least for a couple of days immediately after algal application. Soil samples were collected from the experimental plots and were analysed for pH, EC, ESP, organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and available potassium by adopting standard chemical analytical procedures. The leaf yield of mulberry was also recorded and finally the economics of leaf production were calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

Various doses of blue - green algae cause a decrease in soil pH by 0.40 to 1.40 units, electrical conductivity values from 0.155 to 0.519 dSm⁻¹ and exchangeable sodium percentage values from 0.80 to 5.42 relative to the respective values of control (Table I).

At the same time, it caused an increase in the contents of organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and available potassium from 0.05 to 0.29%, 0.007 to 0.033%, 4.00 to 17.00 kg / ha and 12.00 to 60.00 kg / ha respectively in respect of control (Table II).

Blue - green algae at the rate of 100 kg / ha increased the leaf yield of mulberry maximum of 23.67% over control followed by 22.29% and 20.53% by the application of blue - green algae at the rate of 90 kg / ha and 80 kg / ha respectively (Table III). The increase in mulberry leaf yield by the application of blue - green algae may be due to its contribution in supplying additional plant nutrients, improvement of soil physical and chemical conditions, biological processes in soil, liberation of growth promoting substances and vitamins (Hemant Kumar and Kaushik, 1989; Kerni and Gupta, 1985; Gupta and Shukla, 1969; Roychoudhury *et al.*, 1979; Venketaraman, 1981).

It is well established that the nitrogen fertilisation has no negative effect on nitrogen fixation of blue - green algae and as a result significant increase in production was achieved by algal inoculation even under high fertilizer nitrogen application.

Results indicated that all the treatments increased the net profit of mulberry cultivation (Table IV). The maximum additional net income of U S \$ 113.25 over control was recorded by the application of blue - green algae at the rate of 100 kg / ha followed by U. S. \$ 107.50 for blue - green algae at the rate of 90 kg / ha.

Table I. Effect of blue - green algae on soil reaction, electrical conductivity and exchangeable sodium percentage.*Tableau I. Effet des algues bleu - vert sur la réaction du sol, la conductivité électrique et le pourcentage de sodium échangeable.*

Treatments	Soil reaction (pH)	Electrical conductivity (dSm ⁻¹)	Exchangeable sodium (%)
<i>Traitements</i>	<i>Réaction du sol (pH)</i>	<i>Conductivité électrique (dSm⁻¹)</i>	<i>Sodium échangeable (%)</i>
Control / <i>Témoin</i>	8.60	0.682	15.60
BGA (10 kg / ha)	8.20	0.527	14.80
BGA (20 kg / ha)	8.00	0.484	13.40
BGA (30 kg / ha)	7.70	0.432	13.12
BGA (40 kg / ha)	7.50	0.359	13.00
BGA (50 kg / ha)	7.40	0.310	12.80
BGA (60 kg / ha)	7.35	0.300	12.00
BGA (70 kg / ha)	7.35	0.287	11.42
BGA (80 kg / ha)	7.25	0.265	11.28
BGA (90 kg / ha)	7.20	0.192	10.80
BGA (100 kg / ha)	7.20	0.163	10.18
F	**	**	**
SE ±	0.17	0.017	0.62
CD (P = 0.05)	0.35	0.036	1.30

BGA: Blue - green algae / *Algue bleu -vert*

Table II. Effect of blue - green algae on organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and available potassium.

Tableau II. Effet des algues bleu - vert sur le carbone organique, l'azote totale, le phosphore disponible et le potassium disponible.

Treatments	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	Available phosphorus (kg / ha)	Available potassium (kg / ha)
<i>Traitements</i>	<i>Carbone organique (%)</i>	<i>Azote total (%)</i>	<i>Phosphore disponible (kg / ha)</i>	<i>Potassium disponible (kg / ha)</i>
Control / Témoin	0.35	0.032	7.00	170.00
BGA (10 kg / ha)	0.40	0.039	11.00	182.00
BGA (20 kg / ha)	0.43	0.045	14.00	197.00
BGA (30 kg / ha)	0.48	0.049	15.00	207.00
BGA (40 kg / ha)	0.52	0.052	16.00	210.00
BGA (50 kg / ha)	0.54	0.055	16.00	212.00
BGA (60 kg / ha)	0.57	0.056	17.00	214.00
BGA (70 kg / ha)	0.58	0.058	18.00	214.00
BGA (80 kg / ha)	0.59	0.060	19.00	221.00
BGA (90 kg / ha)	0.61	0.062	22.00	225.00
BGA (100 kg / ha)	0.64	0.065	24.00	230.00
F	**	**	**	**
SE $\pm$	0.02	0.003	1.14	4.45
CD (P = 0.05)	0.04	0.005	2.38	9.27

BGA: Blue - green algac / *Algues bleu - vert.*

Table III. Effect of blue - green algae on the yield of mulberry.**Tableau III. Effet des algues bleu - vert sur le rendement des mûriers.**

Treatments /	Leaf yield / (MT / ha / yr) /
<i>Traitements</i>	<i>Rendement en feuilles (T / ha / an)</i>
Control / <i>Témoin</i>	23.87
BGA (10 kg / ha)	25.16
BGA (20 kg / ha)	26.40
BGA (30 kg / ha)	26.84
BGA (40 kg / ha)	27.22
BGA (50 kg / ha)	27.73
BGA (60 kg / ha)	28.04
BGA (70 kg / ha)	28.39
BGA (80 kg / ha)	28.77
BGA (90 kg / ha)	29.19
BGA (100 kg / ha)	29.52
F	**
SE $\pm$	0.73
CD (P = 0.05)	1.53

BGA: Blue - green algae / *Algues bleu - vert.***MT:** Metric tonne / *Tonne.*

Table IV. Economics of application of blue - green algae.

Tableau IV. Rentabilité de l'utilisation d'algues bleu - vert.

Treatments	Increase in leaf yield over control (MT)	Increase over control (US \$)	Cost of blue - green algae (US \$)	Cost of application of blue - green algae (US \$)	Net profit (US \$)
<i>Traitements</i>	<i>Augmentation du rendement en feuilles par rapport aux témoins (T)</i>	<i>Augmentation par rapport aux témoins (US \$)</i>	<i>Coût de l'algue bleu - vert (US \$)</i>	<i>Coût de l'application de l'algue bleu - vert (US \$)</i>	<i>Bénéfice net (US \$)</i>
Control / <i>Témoin</i>	---	---	---	---	---
BGA (10 kg / ha)	1.29	32.25	2.50	3.0	36.73
BGA (20 kg / ha)	2.53	63.25	5.00	3.0	55.25
BGA (30 kg / ha)	2.97	74.25	7.50	3.0	63.75
BGA (40 kg / ha)	3.35	83.75	10.00	3.0	70.75
BGA (50 kg / ha)	3.86	96.50	12.50	3.0	81.00
BGA (60 kg / ha)	4.17	104.25	15.00	3.0	86.25
BGA (70 kg / ha)	4.52	113.00	17.50	3.0	92.50
BGA (80 kg / ha)	4.90	122.50	20.00	3.0	99.50
BGA (90 kg / ha)	5.32	133.00	22.50	3.0	107.50
BGA (100 kg / ha)	5.65	141.25	25.00	3.0	113.25

BGA: Blue - green algae / *Algue bleu - vert*.MT: Metric tonne / *Tonne*.Cost of one kg of blue - green algae: US \$ 0.25 / *Coût d'un kg d'algues bleu - vert : US \$ 0.25*.Cost of one MT of mulberry leaf: US \$ 25 / *Coût d'une tonne de feuilles de mûriers : US \$ 25*.

It is concluded from the present investigation that blue - green algae can be effectively used to reclaim and to improve the nutritional status of salt - affected mulberry garden, to improve the mulberry productivity and its economics.

REFERENCES

- ABROL I. P., BHUMBLA D. R. (1971) Saline - alkali soils in India - Their occurrence and management. World Soil Regour (FAO, Rome, Italy), 41, 42 - 51.
- BOSE P. C., MAJUMDER S. K., DUTTA R. K. (1992) Effect of amendments on chemical properties of alkali soil of mulberry garden and its yield. Ind. J. Seric., 31 (2), 147 - 150.
- DURASAMY P., KOTHANDARAMAN G. V., CHELLAMUTHU S. (1986) Effect of amendments and zinc on chemical properties of an alkali soil, Madras Agric. J., 73 (3), 129 - 134.
- GAUL B. L., DARGAN K. S. (1978) Effect of doses and frequency of gypsum application in reclamation and crop production in sodic soil. Ind. J. Agron., 23, 1 - 4.
- *GUPTA A. B., SHUKLA A. C. (1969) Hydrobiologia, 34, 77 - 84.
- HEMANT KUMAR, KAUSHIK B. D. (1989) Bioameliorant blue - green algae and salt - affected soils. Proceedings of National Seminar on Biofertilizer Technology Transfer, Aurangabad, India, p.30.
- KERNI P. N., GUPTA A. (1985) Effect of algal inoculation in pear seedlings (*Pyrus communis*): A comparative study. Research and Development Reporter, 2 (2), 61 - 62.
- ROYCHOUDHURY P., KAUSHIK B. D., KRISHNAMURTHY G. S. R., VENKETARAMAN G. S. (1979) Effect of blue - green algae and azolla application on the aggregation status of the soil. Current Science, 48, 454 - 55.
- VENKETARAMAN G. S. (1981) F. A. O. Soils Bulletin No. 46, Rome, Italy.

*Original not seen.

EFFET D'ALGUES BLEU - VERT SUR LES CARACTERISTIQUES CHIMIQUES ET NUTRITIONNELLES D'UN SOL SALIN DE CHAMP DE MURIER, SA PRODUCTIVITE ET SA RENTABILITE

P. C. BOSE* & S. K. MAJUMDER*

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

L'efficacité des algues bleu - vert dans la régénération d'un sol salin, en améliorant les caractéristiques nutritionnelles, ainsi qu'en augmentant la productivité et la rentabilité du mûrier, a été étudiée à la plantation de mûrier du C. S. R. & T. I. Mysore. L'application d'algues bleu - vert réduit considérablement le pH du sol, la conductivité électrique et le sodium échangeable et a pour résultat, une amélioration du statut nutritionnel du sol en ce qui concerne le carbone organique, l'azote total, le phosphore et le potassium disponibles. Ceci augmente également le rendement en feuilles de mûrier, ce qui a pour résultat une réduction des coûts de production.

INTRODUCTION

Environ 7 millions d'hectares de terrain sont affectés par la salinité ou l'alcalinité en Inde (Abrol et Bhumbra, 1971). Dans le cas d'un sol salin, il doit être convenablement modifié pour l'optimisation de la croissance et du rendement des mûriers. Des efforts ont été faits par divers chercheurs afin de corriger les sols salins, en appliquant différentes préparations (Bose et coll., 1992 ; Gaul et Dargan, 1978 ; Duraisamy et coll., 1986). Par contre, pratiquement aucune étude n'a été entreprise sur la réhabilitation des sols salins grâce à l'utilisation d'algues bleu - vert (Hemant Kumar et Kaushik, 1989). En outre, aucune étude n'a été accomplie sur la réhabilitation d'un sol salin de champs de mûriers, grâce à l'application d'algues bleu - vert et sur ses effets sur le rendement en feuilles de mûrier. Mise à part sa faculté de récupération, l'algue bleu - vert est capable de fixer l'azote élémentaire (Venketaraman, 1981), de libérer des substances qui stimulent la croissance (Gupta et Shukla, 1969) et d'améliorer le statut physique et chimique du sol (Roychoudhury et coll., 1979). L'étude actuelle a été entreprise afin d'étudier l'impact de l'algue bleu - vert sur l'amélioration des caractéristiques chimiques et nutritionnelles d'un sol salin et sur le rendement en feuilles chez le mûrier.

MATERIELS ET METHODES

L'étude a été conduite dans une parcelle saline de la plantation de mûriers du Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore. Le sol du champ expérimental avait un pH de 8,60, une conductivité électrique (EC) de $0,682 \text{ dSm}^{-1}$ et un pourcentage de sodium échangeable (ESP) de 15,60. Les paramètres nutritionnels du sol expérimental étaient 0,35 % de carbone organique (à savoir 58 % des matières organiques totales), 0,032 % d'azote total (à savoir les formes organique, ammoniacale et nitrée de l'azote), 7 kg / ha de phosphore disponible (à savoir une fraction du phosphore du sol qui

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 10, Inde.

peut être corrélée avec la réponse des cultures) et 170 kg / ha de potassium disponible (à savoir la fraction de potassium du sol qui peut être mise en corrélation avec la réponse des cultures). Des mûriers âgés de deux ans (Kanva 2) ont été utilisés en tant que cultures témoins, en parcelles de 4,5 m × 8,0 m avec un espacement entre les plants de 0,9 m × 0,9 m en adoptant la méthode d'échantillonnage aléatoire avec trois répétitions. L'azote, le phosphore et le potassium ont été appliqués à un taux de 300 kg / ha / an, de 120 kg / ha / an et de 120 kg / ha / an, respectivement. La préparation d'algues bleu - vert (BGA) a été réalisée à l'aide d'un mélange de *Nostoc punctiformae*, de *Westiellopsis prolifica*, de *Tolypothrix ceylonica* et de *Calothrix marchica* en proportions égales, obtenues de l'Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, Inde. Elle a été appliquée en tant que traitement, à un taux de 10 kg / ha, 20 kg / ha, 30 kg / ha, 40 kg / ha, 50 kg / ha, 60 kg / ha, 70 kg / ha, 80 kg / ha, 90 kg / ha et de 100 kg / ha respectivement. La préparation d'algues bleu - vert fut appliquée au - dessus de l'eau stagnante dans le champ, une semaine après la taille. Immédiatement après l'application de l'algue, le champ a été maintenu gorgé d'eau pendant au moins deux jours. Des échantillons du sol ont été recueillis dans les parcelles expérimentales et ont été analysés pour le pH, l'EC, l'ESP, le carbone organique, l'azote total, le phosphore et le potassium disponibles en adoptant les procédures d'analyse chimique standard. Le rendement en feuilles de mûrier a également été enregistré et finalement la rentabilité de la production de feuilles a été calculée.

RESULTATS ET DISCUSSION

Diverses doses d'algues bleu - vert provoquent une diminution du pH du sol de 0,40 à 1,40 unités, des valeurs de conductivité électrique de 0,155 à 0,519 dSm⁻¹ et des valeurs du pourcentage de sodium échangeable de 0,80 à 5,42 par rapport aux valeurs respectives des témoins (Tableau I).

Parallèlement, ceci provoque une augmentation des teneurs en carbone organique, en azote total, en phosphore et potassium disponibles de 0,05 à 0,29 %, de 0,007 à 0,033 %, de 4,00 à 17,00 kg / ha et de 12,00 à 60,00 kg / ha respectivement par rapport aux témoins (Tableau II).

L'algue bleu - vert à un taux de 100 kg / ha augmente le rendement en feuilles des mûriers d'un maximum de 23,67 % par rapport aux témoins, suivi de 22,29 % et de 20,53 % en appliquant l'algue bleu - vert à un taux de 90 kg / ha et de 80 kg / ha respectivement (Tableau III). L'augmentation du rendement en feuilles de mûriers grâce à l'application des algues bleu - vert pourrait être due à son apport en nutriments additionnels. L'amélioration se situe au niveau des conditions physiques et chimiques du sol, des processus biologiques à l'intérieur du sol et de la libération de vitamines et de substances qui stimulent la croissance (Hemant Kumar et Kaushik, 1989 ; Kerni et Gupta, 1985 ; Gupta et Shukla, 1969 ; Roychoudhury et coll., 1979 ; Venketaraman, 1981).

Il a été largement établi que l'amendement à l'azote n'avait pas d'effet négatif sur la fixation de l'azote de l'algue bleu - vert et par conséquent une augmentation significative de la production a été obtenue même en inoculant l'algue avec une dose importante d'engrais azoté.

Les résultats indiquent que tous les traitements augmentent le bénéfice net de la culture du mûrier (Tableau IV). Grâce à l'application de l'algue bleu - vert à un taux de 100 kg / ha, le revenu additionnel maximum est de 113,25 U.S. \$ par rapport aux témoins, tandis que pour un taux de 90 kg / ha, il est de 107,50 U.S. \$.

D'après l'investigation actuelle, on peut conclure que l'algue bleu - vert peut être utilisée efficacement pour la réhabilitation et l'amélioration du statut nutritionnel d'un sol salin de champ de mûrier, pour améliorer la productivité et la rentabilité du mûrier.

RECORD OF THE PUPAL PARASITOIDS - *NESOLYNX THYMUS* (GIRAULT) AND *NESOLYNX DEPTERAE* (RISBEC) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) FROM THE OAK TASAR UZIFLY *BLEPHARIPA ZEBINA*

M.V. CHALAPATHY, N. IBOHAL SINGH & B. PRASAD *

Regional Tasar Research Station, Imphal - 795 002, Manipur, India.

Blepharipa zebina Walker (Diptera: Tachinidae) commonly known as the oak tasar uzifly, is a serious endoparasite of the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*. Annually about 20-25 % crop loss has been reported due to its infestation of oak tasar silkworms in the North Eastern region of India (Bidyapati et al., 1994). Two species of parasitoids namely, *Nesolynx thymus* (Girault) and *Nesolynx depterae* (Risbec) were recovered for the first time from pupae of *B. zebina* collected from the Research Extension Centre, Kikruma, Nagaland, India, during the 1997 spring crop rearing season. The hyperparasitoids were cultured separately on fresh uzifly pupae under normal room temperature and relative humidity, ranging between 23 - 28°C and 78 - 80 % respectively. Diluted honey was provided as diet. The following preliminary observations were made during the study.

Keywords: *Blepharipa zebina*, *Nesolynx thymus*, *Nesolynx depterae*, *Antheraea proylei*.

***Nesolynx thymus* (Girault)**

N. thymus is an ectoparasitoid and gregarious in status. Mating was observed immediately after emergence. The mated female moved actively towards the fresh uzifly pupae and laid eggs by piercing the intersegmental membranes. It laid 50-55 eggs in a single pupa when 5 fresh uzipupae were offered. Average fecundity was observed to be 200-250. After hatching, the larvae were grown within the body of the host and completed their larval period within 18-20 days. The adults are brownish yellow in colour and smaller in size than *N. depterae*. The males survived for 7 to 9 days and female for 16 to 18 days.

***Nesolynx depterae* (Risbec)**

N. depterae is also an ectoparasitoid and gregarious in status. The adults mated immediately after emergence from the host pupae. The mated female actively approached the fresh pupae and laid eggs similar to *N. thymus*. 35-40 eggs were laid in a single pupa when 5 fresh uzipupae were offered. The fecundity was 180 to 200. After hatching, the larvae underwent three larval instars and pupated within the pupae. *N. depterae* completed its larval period within 20 to 22 days. Emergence of adults was observed within 8 to 10 days. The adults are dark brown in colour and bigger in size than *N. thymus*. The males lived for 8 to 10 days whereas the female survived for 18 to 20 days. After emergence of adults, circular holes were seen on each puparia in both *N. thymus* and *N. depterae*.

These two hyperparasitoids can be cultured and multiplied very easily. release of these hyperparasitoids on a large scale in the oak tasar grainages, reeling units and rearing fields, might help in bio-control of uziflies. Several workers (Veeramma and Nirmala, 1989 ; Sengupta et al., 1990 :

* Entomology Section, Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal - 795 003, Manipur, India.

Pradip Kumar *et al.*, 1992 and Datta, 1992) have reported *N. thymus* from south India as an efficient bio-control agent for the uzifly *Exorista Bombycis*.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to Prof. Narendran T.C., Department of Zoology, University of Calicut, Kerala, India, for identification of the parasitoids.

REFERENCES

- BIDYAPATI L., NOAMANI M.K.R., DAS P.K. (1994) Pest complex of Oak Tasar, *Indian Silk*, 33(3): p.44-48.
- DATTA R.K. (1992) Integrated pest management (IPM) - An answer to Uzi menace. *Indian silk*, 30(10), p. 36,37 and 40.
- PRADIP KUMAR, REMA DEVI O., RAMKISHORE, SENGUPTA K. (1992) Parasite of the uzifly, *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera: Tachinidae). XIV, Biology of *Nesolynx thymus* (Girault). *Sericologia* 32(3) 495-496.
- SENGUPTA K., KUMAR PRADIP, BAIG, GOVINDAIAH (1990) Hand book on disease and pests of silkworm and mulberry. United Nations, ESCAP, Bangkok, Thailand. pp. 67-73.
- VEERANNA G., NIRMALA M.R. (1989) Effect of various diets on the longevity and emergence of adults of *Exoristobia philippinensis* and *Nesolynx thymus* Walk. (Hymenoptera: Eulophidae) parasites of *Tricholyga bombycis* (Diptera: Tachinidae). *Proc. Ind. Nat. Acad. B.* 55 (1): pp 31-34.

NOUVEAUX PARASITOÏDES - *NESOLYNX THYMUS* GIRAULT ET *NESOLYNX DEPTERAE* RISBEC (HYMENOPTERA : EULOPHIDAE) DE LA MOUCHE UZI *BLEPHARIPA ZEBINA* DU TASAR DU CHÈNE

M.V.CHALAPATHY, N. IBOHAL SINGH & B.PRASAD*

Regional Tasar Research Station, Imphal - 795 002, Manipur, Inde.

Blepharipa zebina Walker (Diptera : Tachinidae) connue sous le nom de mouche uzi du tassar du chêne, est un endoparasite dangereux pour le ver à soie tassar du chêne, *Antheraea proylei*. Annuellement, il y a environ 20 à 25 % de perte dans la récolte, ceci est dû à l'infestation des vers à soie tassar dans la région du Nord Est de l'Inde (Bidyapati et coll., 1994). Deux espèces de parasitoïdes, *Nesolynx thymus* (Girault) et *Nesolynx depterae* (Risbec) ont été récupérés pour la première fois sur une pupa de *B. zebina* récoltée au 'Research Extension Centre', Kikruma, Nagaland, Inde, durant la récolte du printemps 1997. Les hyperparasitoïdes ont été cultivés séparément sur des pupes de mouche uzi à une température ambiante allant de 23 à 28°C et une humidité relative de 78-80%. Du miel dilué a servi de nourriture. Les observations préliminaires qui suivent ont été faites lors de cette étude.

Nesolynx thymus (Girault)

N. thymus est un ectoparasitoïde grégaire. L'accouplement est observé immédiatement après l'émergence. La femelle fécondée se dirige activement vers les jeunes nymphes de mouche uzi et pond ses oeufs en perçant les membranes intersegmentaires de la nymphe. Elle pond 50-55 oeufs dans une seule nymphe lorsque 5 pupes uzi sont offertes. La moyenne de la fécondité est de 200 à 250. Après l'éclosion, les larves grandissent à l'intérieur du corps de l'hôte et achèvent leur période larvaire en 18 à 20 jours. Les adultes sont de couleur brun-jaune et sont plus petits que *N. depterae*. Les mâles survivent 7 à 9 jours et les femelles, 16 à 18 jours.

Nesolynx depterae (Risbec)

N. depterae est un ectoparasitoïde grégaire. Les adultes s'accouplent immédiatement après leurs sorties des pupes 'hôtes'. La femelle fécondée se dirige immédiatement vers les jeunes pupes et pond comme *N. thymus* 35 à 40 oeufs sur une seule pupa lorsque 5 pupes sont offertes. La fécondité est de 180 à 200. Après l'éclosion, les larves connaissent trois stades larvaires et se transforment en chrysalides à l'intérieur des pupes. *N. depterae* achève sa période larvaire en 20-22 jours. L'émergence des adultes est observée dans les 8 à 10 jours. Les adultes sont brun foncé et plus gros que *N. thymus*. Les mâles vivent 8 à 10 jours alors que les femelles survivent 18 à 20 jours. Après l'émergence des adultes, nous pouvons remarquer des trous circulaires sur chacun des pupariums chez *N. thymus* ainsi que *N. depterae*. Ces deux hyperparasitoïdes peuvent être cultivés et multipliés très facilement. Le

* Entomology Section, Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal - 795 003, Manipur, Inde.

lâchage d'hyperparasitoïdes à grande échelle, sur les grainages du tasar du chêne, les unités de filature, et les champs d'élevage, peuvent apporter une aide pour la lutte biologique contre les mouches uzi. Plusieurs chercheurs (Veeranna et Nirmala, 1989 ; Sengupta et coll., 1990 ; Pradip Kumar et coll., 1992 et Datta, 1992) ont noté que *N. thymus* en Inde du sud est un agent de lutte biologique efficace contre les mouches uzi *Exorista Bombycis*.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	477
General sericulture	
Mûrier	479
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	481
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	487
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	489
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	493
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : oeufs, embryologie	497
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	499
Silkworms: silk glands	
Soie	501
Silk	

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / <i>Bulgarian</i> .	(C) Chinois / <i>Chinese</i> .
(D) Allemand / <i>German</i> .	(E) Anglais / <i>English</i> .
(F) Français / <i>French</i> .	(J) Japonais / <i>Japanese</i> .
(I) Italien / <i>Italian</i> .	(Pl) Polonais / <i>Polish</i> .
(K) Coréen / <i>Korean</i> .	(R) Russe / <i>Russian</i> .
(Pt) Portugais / <i>Portuguese</i> .	(S) Espagnol / <i>Spanish</i> .
(Ro) Roumain / <i>Rumanian</i> .	

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.
The corresponding small letters indicate the language of the abstract.

Sériciculture générale

General sericulture

Mulberry breeding programmes for eastern and north-eastern India.

Programmes de reproduction des mûriers de l'Est et du Nord-Est de l'Inde.

CHAKRABORTI S.P. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742101, West Bengal, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(4), 5-9. (E)

Mulberry sericulture in Bihar : an introspection.

Sériciculture au Bihar : une introspection.

DAS K.K. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, West Bengal, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(6), 17-18, 21. (E)

Field evaluation of new bivoltine hybrids in Sub-tropical Jammu.

Evaluation sur le terrain de nouveaux hybrides bivoltins dans le Jammu subtropical.

FOTADAR R.K. *et al.*

Research Extension Centre, Kathua, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 9-10. (E)

Studies on the output of cocoon and raw silk and distribution of sericultural areas in the world.

Etudes sur la production de cocons et de soie grège et distribution des aires séricicoles dans le monde.

GU G.

Department of Sericultural, Zhejiang University, Hangzhou 3129, China.

1999 Canye Kexue, Vol. 25(2), 120-125. (C,e)

Occurrence of non-cocooning silkworms.

Existence de vers à soie non fileurs.

MARIBASHETTY V.G. *et al.*

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore 560062, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 11-13. (E)

Sericulture in the republic of Ukraine.

Sériciculture en république d'Ukraine.

MUKHERJEE P.

Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Hosur, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(4), 16-20. (E)

Quality system for testing laboratories.

Système de qualité pour les laboratoires de tests.

NAO N.

Central Sericultural Research and Training Institute, Bangalore, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 25-26. (E)

Sericulture in Uttar Pradesh.

Sériciculture en Uttar Pradesh.

SUMBLI S.N. *et al.*

Regional Sericultural Research Station, Sahaspur, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(5), 10-14. (E)

Integrated silkworm disease management: China Vs India.

Gestion intégrée des maladies des vers à soie : Chine vs Inde.

VEERANNA G.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore 560062, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 27-29. (E)

The skill of reelers: a case study.

L'habileté des filateurs : une étude de cas.

VIJAYENDRA M. *et al.*

Sericulture College, Chintamani, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 23-24. (E)

Mûrier

Mulberry

Micropropagation of mulberry for commercial cultivation in Tropics.

Micropropagation de mûriers pour culture commerciale sous les tropiques.

DANDIN S.B., MALLIKARJUNAPPA R.S.

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

1999 Indian Silk, Vol. 38(6), 19-21. (E)

A simple device for mulberry leaf preservation.

Un équipement simple pour la conservation des feuilles de mûrier.

HIMANTHARAJ M.T. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 578, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 5, 13. (E)

Sustained expression of dwarf symptoms in mulberry shoots grown in vitro and their disappearance through the culture of multiple bud bodies.

Expression soutenue des symptômes de nanisme chez les pousses de mûrier in vitro et leur disparition par la culture de corps à bourgeons multiples.

OKA S. *et al.*

National Institute of Agrobiological Resources 2-1-2, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 35-862, Japan.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(4), 339-344. (E,j)

Development of mulberry and the performance of silkworm (*Bombyx mori* L.) under the effect manure of different origins.

Développement de mûriers et performance des vers à soie (*Bombyx mori* L.) sous l'effet de fumures de différentes origines.

TAKAHASHI R., DIAS L.T., DE SOUZA N.H., TAKAHASHI K.M., MARINCEK S.P.

Departamento de Zootecnia de Nao Ruminantes, Campus de Jaboticabal, UNESP, Brazil.

1998 Boletim de Industria Animal, Vol. 55(1), 95-98. (Pt,e)

Two-dimensional electrophoresis analysis of sap flow proteins in mulberry, *Morus*.

Analyse par électrophorèse bidimensionnelle des protéines de la sève chez le mûrier, *Morus*.

TAN J., LOU C.

School of Sericulture, Suzhou University, Suzhou 215151, China.

1999 Canye Kexue, Vol. 25(2), 65-69. (C,e)

Studies on relationship of adult and juvenile mulberry (*Morus sp.*) during initial growth period.
Etudes sur les rapports entre les mûriers adultes et les mûriers juvéniles (*Morus sp.*) pendant la période de croissance initiale.

TIKADER A., ROY B.N.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, Murshidabad 742 11, W.B., India.
1999 *Bull. Ind. Acad. Seri., Vol. 3(1), 11-15. (E)*

Genomic DNA polymorphisms in eight species of the microsporidian spores by using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) method.

Polymorphismes de l'ADN génomique chez 8 espèces de spores de microsporidiens en utilisant la méthode de l'ADN polymorphique amplifié au hasard (RAPD).

WANG J. *et al.*

1999 *Canye Kexue, Vol. 25(3), 195-197. (C)*

A comparative analysis of the content of chlorophyll and the photosynthesis rate of an artificial triploid mulberry breed-Jia Ling 16.

Une analyse comparative du contenu en chlorophylle et du taux de photosynthèse chez un triploïde artificiel de mûrier Jia Ling 16.

YU M. *et al.*

1999 *Canye Kexue, Vol. 25(3), 190-191. (C)*

Effects of trivalent and hexavalent chromium on the growth of the mulberry seedlings cultured by hydroponics.

Effets du chrome trivalent et hexavalent sur la croissance des plants de mûrier cultivés hors-sol.

ZHANG J., KUNO K.

Faculty of Agriculture Division, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183-859, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(4), 295-300. (J,e)*

Cytological investigation on preliminary androgenesis of mulberry.

Investigation cytologique sur l'androgénèse préliminaire du mûrier.

ZHANG X. *et al.*

1999 *Canye Kexue, Vol. 25(3), 186-189. (C)*

A study of the effect of winter pruning method of mulberry on resistance to mosaic disease and the yield and quality of spring leaves.

Une étude sur les effets de la méthode de taille d'hiver des mûriers sur la résistance aux différentes maladies, sur le rendement et la qualité des feuilles de printemps.

ZHU F., HE B., LIN Q., HU L.

Guangxi Zhuangzu Autonomous Regional Sericultural Research and Development Institute, Nanning 530007, China.

1999 *Canye Kexue, Vol. 25(3), 135-140. (C,e)*

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

Breeding of a new silkworm variety Xia7 x Xia6 for summer-autumn rearing.

Lignage d'une nouvelle variété de vers à soie Xia7 x Xia6 pour les élevages d'été et d'automne.

CAO J. *et al.*

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 192-194. (C)

A simple device to trap uzi flies.

Un moyen simple pour piéger les mouches uzi.

CHAKRABORTY K.K.

State Grainage, Amrithi, Malda Dist., West Bengal, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(6), 14, 16. (E)

Induction of trimoulting behaviour in silkworms for superfine silk.

Induction d'un comportement trimuant chez les vers à soie pour obtenir une soie surfine.

CHANDRAKALA M.V.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Kanakapura Road, Bangalore 560062, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(5), 5-6. (E)

Inhibiting mechanism and physicochemical properties of eating repellent factor to silkworm in soybean meal.

Mécanisme inhibiteur et propriétés physico-chimiques du facteur répulsif pour le ver à soie dans l'aliment au soja.

CUI W., WANG Y., LI W., XU J.

Department of Sericulture, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 102-107. (C,e)

Studies on sporal protein chemical properties of microsporidias pathogenic to silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes des propriétés chimiques des protéines des spores des microsporidiens pathogènes du ver à soie, *Bombyx mori*.

GAO Y. *et al.*

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 21218, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 82-91. (C,e)

Studies on the ultrastructure of microsporidias pathogenic to silkworm *Bombyx mori*.

Etudes sur l'ultrastructure de microsporidies pathogènes du ver à soie *Bombyx mori*.

GAO Y., HUANG K.

The Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 21218, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 163-169. (C,e)

Propagation of *Nosema bombycis* in *Antheraea eucalypti* cell line.

Propagation de *Nosema bombycis* chez une lignée cellulaire d'*Antheraea eucalypti*.

GONG C., SYOJI H.

Sericultural College, Suzhou University Suzhou, 215151, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 92-96. (C,e)

Minimum structure of peptidoglycan required for induction of antibacterial protein synthesis in the silkworm, *Bombyx mori*.

Structure minimale de peptidoglycan requise pour l'induction de la synthèse de protéine antibactérienne chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

IKETANI M., NISHIMURA H., AKAYAMA K., YAMANO Y., MORISHIMA I.

Tottori University, Fac Agr, Dept Biochem and Biotechnol. Tottori 680, Japan.

1999 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 29(1), 19-24. (E)

Characterization of the 25K FP gene of the baculovirus *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus: implications for post-mortem host degradation.

Caractérisation du gène 25K FP du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* : implications dans les dégradations post-mortem de l'hôte.

KATSUMA S., NOGUCHI Y., ZHOU C.L.E., KOBAYASHI M., MAEDA S.

University Calif Davis, Dept Entomol, Davis, CA 95616, USA.

1999 *Journal of General Virology*, Vol. 8(3), 783-791. (E)

Study on the isolation and identification of *Bacillus thuringiensis* in soil samples from Yakushima Island. (I) Serological identification and flora.

Etude sur l'isolement et l'identification de *Bacillus thuringiensis* dans des échantillons du sol de l'île Yakushima. I. Identification sérologique et flore.

KIKUTA H. *et al.*

Rakuno Gakuen University, Ebetsu 069-8501, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 217-223. (J,e)

Study on the isolation and identification of *Bacillus thuringiensis* in soil samples from Yakushima Island. (II) Insecticidal activity and the identification of cry genes.

Etude sur l'isolement et l'identification de *Bacillus thuringiensis* dans des échantillons du sol de l'île Yakushima. (II) Activité insecticide et identification des gènes cry.

KIKUTA H. *et al.*

Rakuno Gakuen University, Ebetsu 069-8501, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 225-235. (J,e)

Breeding of silkworm new variety Jiu.Hua x Chun.Zao.

Lignée d'une nouvelle variété de vers à soie Jiu.Hua x Chun.Zao.

LI S., LING C.

Sericultural Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230061, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 144-148. (C,e)

A primary report on natural feedings of silkworm in plastic sheds.

Un premier rapport sur l'alimentation naturelle des vers à soie sous une serre en matière plastique.

LING C.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 132-133. (C)

Distribution of the enterococci isolates from the intestine of the silkworm, *Bombyx mori*.

Distribution d'entérocoques isolés de l'intestin du ver à soie, *Bombyx mori*.

LU X., JIN W., QIAN Y., GONG C.

Department of Sericultural Science, Zhejiang University, Hongzhou 310029, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 158-162. (C,e)

Inhibition effect of propionates on the insecticidal activity of BT (*Bacillus thuringiensis*) formulations.

Effet d'inhibition des propionates sur l'activité insecticide des formulations de BT (*Bacillus thuringiensis*).

MATSUMOTO N.

Laboratory of Applied Zoology, Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 333-338. (J,e)

Breeding of bisexual lines of the silkworm *Bombyx mori* L. with androgenetic origin.

Breeding de lignées bisexuées du ver à soie *Bombyx mori* L. ayant une origine androgénétique.

NACHEVA Y., PETKOV N. *et al.*

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov, Vratza 3000, Bulgaria.

1999 *Bull. Ind. Acad. Seric.*, Vol. 3(1), 36-41. (E)

Increasing curves of two virus DNAs in the midgut epithelium of silkworm infected with *Bombyx mori* denonucleosis virus type 2 (BmDNV-2).

Courbes d'accroissement de deux virus à ADN dans l'hépihélium de l'intestin moyen de vers à soie infectés avec le virus de la denonucleose de *Bombyx mori* de type 2 (BmDNV-2).

NAKAGAKI M., MORINAGA T., ZHOU C., KAJIURA Z., TAKEI R.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 173-180. (J,e)

Numeral description of the distorsion of the cocoon shape using the principal component analysis of the Fournier coefficients with the standardized phase.

Description numérique de la distorsion de la coque des cocons en utilisant l'analyse en composant principal des coefficients de Fournier.

NISHIOKA T., SATOH H., QUAK ONN L.

Faculty of Textile and Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda, Nagano 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 309-314. (J,e)

Development of an automatic rearing machine for the fifth instar larvae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Développement d'une machine automatique pour élever les vers à soie *Bombyx mori*, au 5e stade larvaire.

OHURA M., PENG Y., NINAGI O.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 35-8634, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 345-351. (J,e)

Protection of silkworms from poisoning.

Protection des vers à soie de l'empoisonnement.

PATIL C.S.

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

1999 Indian Silk, Vol. 38(3), 7-8. (E)

Thatte - The new silkworm disease in Karnataka.

Thatte - La nouvelle maladie de ver à soie au Karnataka.

PRASAD N.R. *et al.*

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

1999 Indian Silk, Vol. 38(4), 13-14. (E)

Toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *wuhanensis* crystal protein to *Bombyx mori* and *Spodoptera litura*.

Toxicité de la protéine cristalline de *Bacillus thuringiensis* subsp. *wuhanensis* pour *Bombyx mori* et *Spodoptera litura*.

PUJIASTUTI Y. *et al.*

Laboratory of Applied Molecular Entomology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Japan.

1999 J. Seric. Sci. Jpn., Vol. 68(3), 195-199. (E,j)

Lac coating on bamboo rearing trays.

Revêtement de gomme sur les plateaux d'élevage en bambou.

RAJAN R.K. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570008, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(6), 11-13. (E)

Management of pebrine through thermotherapy.

Gestion de la pébrine par thermothérapie.

REVI S. *et al.*

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(5), 7-9. (E)

Use of waste polypropylene bags for making silkworm rearing trays.

Utilisation de sacs en polypropylène pour la construction de plateaux pour l'élevage de vers à soie.

SARATCHANDRA B. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742101, West Bengal, India.

1999 Indian Silk, Vol. 38(4), 41-42. (E)

Single feeding. A new approach for chawki rearing.

Nourissage unique. Une nouvelle approche de l'élevage chawki (jeunes vers à soie).

SEKHARAPPA B.M., MUNIRAJU E.

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

1999 Indian Silk, Vol. 38(4), 10-12. (E)

Study on rearing of single male silkworms in the cocoon production by using male hybrids.

Etude sur l'élevage de vers à soie mâles pour la production de cocons en utilisant des hybrides mâles.

SHEN Z. *et al.*

1999 Canye Kexue, Vol. 25(3), 201-202. (C)

Effect of rearing at non-permissive temperature on silkworm larvae infected with temperature-sensitive LEF-8 mutant of *bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.

Effet de l'élevage à une température non permissive sur les larves de ver à soie infectées avec le mutant LEF-8 sensible à la température du virus de la polyédrose nucléaire de *bombyx mori*.

SHIKATA M., NAKAGAWA M., SANO Y., MATSUMOTO T., HASHIMOTO Y.

Kyoto Inst Technol, Fac Text Sci, Dept appl Biol, Sakyo Ku, Kyoto 6068585, Japan.

1999 *Acta Virologica*, Vol. 42(5), 285-292. (E)

Breeding of spring rearing silkworm variety Chunlei.Jihua x 826.H72.

Breeding de la variété de ver à soie Chunlei.Jihua x 826.H72 élevée au printemps.

XIAO J., ZHANG Y., YANG H.

The Sericultural Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Science, Nanchong 637, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 70-73. (C,e)

Infection and multiplication of *Nosema bombycis* from silkworm of Guangdong, China, in *Antheraea eucalypti* cell line.

Contamination et multiplication de *Nosema bombycis* provenant de vers à soie du Guangdong, Chine, dans la lignée cellulaire d'*Antheraea eucalypti*.

ZHENG X., CHISA Y., TAKESHI K.

Sericultural Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 170-174. (C,e)

Inactivation of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) with calcium hydroxide solution.

Inactivation du virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) de *Bombyx mori* avec une solution d'hydroxyde de calcium.

ZHOU C. *et al.*

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Tokida 3-15-1, Ueda 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 201-207. (J,e)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Bacterial diseases of oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* Jolly. I. Isolation and characterization of intestinal bacteria of *A. Proylei* J. and their infectivity.

Maladies bactériennes du ver à soie tasar du chêne, *Antheraea proylei* Jolly. I. Isolement et caractérisation des bactéries intestinales de *A. Proylei* J. et de leur infectiosité.

CHANDRA H., IRABANTA SINGH N.

Regional Tasar Research Station, Industrial Estate, Bhimtal-263136, Nainital, India.

1999 *Bull. Ind. Acad. Seri.*, Vol. 3(1), 27-35. (E)

Study on amylase activity of midgut and carbohydrate content of faeces in different Tussah silkworm races.

Etude sur l'activité amylase de l'intestin moyen et le contenu en carbohydrates des fèces chez différentes races de vers à soie tussah.

JIANG D. *et al.*

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25 (3), 198-200. (C)

Techniques for rearing young age tasar silkworm *A. mylitta* D.

Techniques d'élevage des jeunes vers à soie tasar *A. mylitta* D.

MATHUR S.K. *et al.*

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, Bihar, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(5), 16-21. (E)

Taxonomy, distribution and sericultural potential of the american species of *Antheraea* (*Saturniidae*).

Taxonomie, répartition et potentiel séricicole des espèces américaines d'*Antheraea* (*Saturniidae*).

SEIGLER R.S.

Department of Biology, University of the Incarnate Word, 4301 Broadway, San Antonio, Texas 7829-6397, USA.

1999 *Bull. Ind. Acad. Seri.*, Vol. 3(1), 1-9. (E)

Use of neem against pests of tasar food plants.

Utilisation de margousier contre les nuisibles de la plante nourricière du tasar.

SINGH R.N.

Central Silk Board, CSB Complex, BTM Layout, Madivala, Hosur Road, Bangalore 560068, India.

1999 *Indian Silk*, Vol. 38(3), 20-22. (E)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

Identification of novel random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) on the W chromosome of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, and the wild silkworm, *B. mandarina*, and their retrotransposable element-related nucleotide sequences.

Identification de nouveaux RAPD sur le chromosome W chez le ver à soie domestique, *Bombyx mori* et le ver à soie sauvage, *B. mandarina*, et séquences nucléotidiques de leur élément rétrotransposable. ABE H. *et al.*

Tokyo University Agr and Technol, Fac Agr, Dept Reprod Biol, Fuchu, Tokyo 1838509, Japan.
1998 Genes and Genetic Systems, Vol. 73(4), 243-254. (E)

A complete full-length non-LTR retrotransposon, BMC1, on the W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*.

Un rétrotransposon non-LTR complet, BMC1, sur le chromosome W du ver à soie, *Bombyx mori*. ABE H. *et al.*

Tokyo University Agr and Technol, Fac Agr, Dept Biol Prod, Tokyo 1838509, Japan.
1998 Genes and Genetic Systems, Vol. 73(6), 353-358. (E)

Genetic mapping of RAPD markers linked to the densovirus refractoriness gene, nsd-1, in the silkworm, *Bombyx mori*.

Cartographie génétique des marqueurs RAPD associés au gène de résistance au densovirus, nsd-1, chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

ABE H., HARADA T., KANEHARA M., SHIMADA T., OHBAYASHI F., OSHIKI T.

Tokyo University Agr and Technol, Fac Agr, Dept Reprod Biol, Fuchu, Tokyo 1838509, Japan.
1998 Genes and Genetic Systems, Vol. 73(4), 237-242. (E)

Structure and polymorphism of the *Chironomus thummi* gene encoding special lobe-specific silk protein, ssp160.

Structure et polymorphisme du gène de *Chironomus thummi* codant pour la protéine de soie spécifique du lobe, ssp160.

BEREZIKOV E., BLINOV A.G., SCHERBIK S., COX C.K., CASE S.T.

University Mississippi, Med Ctr, Dept Biochem, Jackson, MS 39216, USA.
1998 Gene, Vol. 223(1-2), 347-354. (E)

Estimation of the position effect and action mode of a semi-lethal factor locus on a DNA polymorphism linkage in silkworm, *Bombyx mori*.

Estimation de l'effet de position et mode d'action d'un locus de facteur semi-léthal sur le linkage de polymorphisme d'ADN chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

CHENG R., SHIMADA T., UKAI Y.

University Tokyo, Grad Sch Agr and Life Sci, Lab Bioresource Technol, Bunkyo Ku, Yayoi 1-1-1, Tokyo 1138657, Japan.

1998 *Genes and Genetic Systems*, Vol. 73(6), 337-343. (E)

Sequence analysis of the genome of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus.

Analyse de séquence du génome du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

GOMI S., MAJIMA K., MAEDA S.

University Calif Davis, Dept Entomol, Davis, CA 95616, USA.

1999 *Journal of General Virology*, Vol. 80(5), 1323-1337. (E)

An effective method for screening silkworm molecular markers SADF.

Une méthode efficace pour le criblage des marqueurs moléculaires SADF chez le ver à soie.

HE N., LU C., ZHOU Z., XIANG Z.

College of Sericulture, Southwest Agricultural University, Chongqing 4716, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 77-81. (C,e)

Site-directed mutagenesis of the AcNPV p143 gene: Effects on baculovirus DNA replication.

Mutagenèse dirigée du gène p143 de AcNPV : effets sur la réplication de l'ADN du baculovirus.

LIU G., CARSTENS E.B.

Queens University, Dept Microbiol and Immunol, Kingston, ON K7L 3N6, Canada.

1999 *Virology*, Vol. 253(1), 125-136. (E)

Isolation and characterization of a *Bombyx vasa*-like gene.

Isolement et caractéristiques d'un gène de type vasa chez *Bombyx*.

NAKAO H.

Natl Inst Sericultural and Entomol Sci, Dept Insect Genet and Breeding, 1-2 Oowashi, Tsukuba, Ibaraki 3058634, Japan.

1999 *Development Genes and Evolution*, Vol. 29(5), 312-316. (E)

Molecular structure of the copia-like retrotransposable element Yokozuna on the W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*.

Structure moléculaire de l'élément rétrotransposable Yokozuna de type copia sur le chromosome W du ver à soie, *Bombyx mori*.

OHBAYASHI F., SHIMADA T., SUGASAKI T., KAWAI S., MITA K., OSHIKI T., ABE H.

Tokyo University Agr and Technol, Fac Agr, Dept Biol Prod, Tokyo 183509, Japan.

1998 *Genes and Genetic Systems*, Vol. 73(6), 345-352. (E)

Recombinant *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus harbouring green fluorescent protein.

Virus de la polyédrose nucléaire recombinant de *Bombyx mori* recelant la protéine fluorescente verte.

SEHGAL D., GOPINATHAN K.P.

Indian Inst Sci, Dept Microbiol and Cell Biol, Bangalore 560012, Karnataka, India.

1998 *Biotechniques*, Vol. 25(6), 997. (E)

DNA fingerprint variability within and among the silkworm *Bombyx mori* varieties and estimation of their genetic relatedness using Bkm-derived probe.

Variabilité des empreintes d'ADN dans et entre les variétés de ver à soie *Bombyx mori* et estimation de leur parenté génétique en utilisant une sonde dérivée de Bkm.

SHARMA A., NIPHADKAR M.P., KATHIRVEL P., NAGARAJU J., SINGH L.
Center Cellular and Molecular Biology, Hyderabad 500007, Andhra Pradesh, India.
1999 *Journal of Heridity*, Vol. 90(2), 315-319. (E)

Transcription analysis of the telomeric repeat-specific retrotransposons TRAS1 and SART1 of the silkworm *Bombyx mori*

Analyse de transcription des rétrotransposons télomériques TRAS1 et SART1 du ver à soie *Bombyx mori*.

TAKAHASHI H., FUJIWARA H.
University Tokyo, Grad Sch Sci, Dept Biol Sci, Bunkyo Ku, 7-3-1 Hongo, Tokyo 1130033, Japan.
1999 *Nucleic Acids Research*, Vol. 27(9), 2015-2021. (E)

The effect of translocated second-chromosome fragments on sex chromosome pairings in ZZWW tetraploid female silkworm, *Bombyx mori*.

L'effet des fragments du deuxième chromosome transloqués sur les appariements des chromosomes sexuels chez les vers à soie *Bombyx mori* femelles tétraploïdes ZZWW.

TANAKA N. *et al.*
Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183-8509, Japan.
1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 315-319. (J,e)

The evolution of sex chromosomes in insects: Differentiation of sex chromosomes in flies and moths.

L'évolution des chromosomes sexuels chez les insectes : Différenciation des chromosomes sexuels chez les mouches et les papillons.

TRAUT W.
Institut für Biologie, Medizinische Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, D-23538 Lübeck, Germany.
1999 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 96, 227-235. (E)

A dense genetic map of the silkworm, *Bombyx mori*, covering all chromosomes based on 1018 molecular markers.

Une carte génétique dense du ver à soie, *Bombyx mori*, couvrant tous les chromosomes, basée sur 1018 marqueurs moléculaires.

YASUKOCHI Y.
National Institut Sericultural and Entomol Sci, Owashi 1-2, Ibaraki, Osaka 3058634, Japan.
1998 *Genetics*, Vol. 15(4), 1513-1525. (E)

Expression of synthetic cecropin AD gene in yeast.

Expression du gène de cécropine synthétique AD chez la levure.

ZHENG Q., HUANG Z., YAO R., SU Z., ZHENG X., WANG Y.
South China Agricultural University, Guangzhou 51642, China.
1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(3), 175-108. (C,e)

A novel expression system based on host-range expansion of baculovirus.

Un nouveau système d'expression basé sur l'expansion de la gamme d'hôtes du baculovirus.

ZHU Y., QI Y.P., LIU D.L., JOSHUA M.N., WANG Y.F.

Wuhan University, Inst Virol, Wuhan 430072, China.

1998 Journal of Virological Methods, Vol. 76(1-2), 101-108. (E)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Spatio-temporal activities in the antennal lobe analyzed by an optical recording method in the male silkworm moth *Bombyx mori*

Activités spatio-temporelles dans le lobe de l'antenne analysées par une méthode d'enregistrement optique chez le mâle du papillon du ver à soie *Bombyx mori*.

AI H., OKADA K., HILL E.S., KANZAKI R.

University Tsukuba, Inst Biol Sci, Tsukuba, Ibaraki 3058572, Japan.

1998 Neuroscience Letters, Vol. 258(3), 135-138. (E)

Hormonal control of ventral diaphragm myogenesis during metamorphosis of the moth, *Manduca sexta*.

Contrôle hormonal de la myogenèse du diaphragme ventral pendant la métamorphose du papillon, *Manduca sexta*.

CHAMPLIN D.T., REISS S.E., TRUMAN J.W.

University Washington, Dept Zool, Box 351800, Seattle, WA 98195, USA.

1999 Development Genes and Evolution, Vol. 29(5), 265-274. (E)

Cytochemical studies on the localization of acid phosphatase activity in midgut epithelium of silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes cytochimiques sur la localisation de l'activité de la phosphatase acide dans l'épithélium de l'intestin moyen du ver à soie, *Bombyx mori*.

CHEN Y., LI J., WU Y.

Department of Sericultural Science, Zhejiang University, Hangzhou 3129, China.

1999 Canye Kexue, Vol. 25(3), 154-157 (C,e)

Disturbance of adult eclosion by fenoxycarb in the silkworm, *Bombyx mori*.

Perturbation par le fénoxycarbe de l'émergence de l'adulte chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

DEDOS S.G., FUGO H.

Tokyo Univ. Agr. and Technol., Fac. Agr., Dept Biol Prod, Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1999 Journal of Insect Physiology, Vol. 45(3), 257-264. (E)

Differences between recombinant PTTH and crude brain extracts in cAMP-mediated ecdysteroid secretion from the prothoracic glands of the silkworm, *Bombyx mori*.

Différences entre la PTTH recombinante et les extraits de cerveau bruts dans la sécrétion d'ecdystéroïdes médiée par la cAMP des glandes prothoraciques du ver à soie, *Bombyx mori*.

DEDOS S.G., FUGO H., NAGATA S., TAKAMIYA M., KATAOKA H.

Tokyo Univ Agr and Technol, Dept Biol Prod, Fuchu, Tokyo 183, Japan.

1999 Journal of Insect Physiology, Vol. 45(5), 415-422. (E)

Activity spectra of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins against eight insect cell lines.

Speçtre d'activité des delta-endotoxines de *Bacillus thuringiensis* contre huit lignées cellulaires d'insectes.

GRINGORTEN J.L., SOHI S.S., MASSON L.

Canadian Forest Serv, 1219 Queen St E, Box 49, Sault St Marie, ON P6A5M7, Canada.

1999 *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animals*, Vol. 35(5), 299-303. (E)

Recycling of urea associated with the host plant urease in the silkworm larvae, *Bombyx mori*.

Recyclage de l'urée associée à l'uréase de la plante hôte chez la larve du ver à soie, *Bombyx mori*.

HIRAYAMA C., SUGIMURA M., SHINBO H.

National Institut Sericultural and Entomol Sci, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1999 *Journal of Insect Physiology*, Vol. 45(1), 15-20. (E)

Cloning and sequence analysis of the aminopeptidase N isozyme (APN2) from *Bombyx mori* midgut.

Clonage et analyse de séquences de l'isozyme N de l'aminopeptidase (APN2) de l'intestin moyen de *Bombyx mori*.

HUA G., TSUKAMOTO K., IKEZAWA H.

Nagoya City University, Fac Pharmaceut Sci, Dept Microbial Chem, Mizuko Ku, 3-1 Tanabe Dori, Aichi 4678603, Japan.

1998 *Comparative Biochemistry and Physiology, B- Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 121(2), 213-222. (E)

Synchronous firing patterns of a set of insect neurosecretory cells.

Déclenchements synchronisés d'un ensemble de cellules neurosécrétrices d'insectes.

ICHIKAWA T., IMAFUKU Y., TAWADA K.

Kyushu University, Fac. Sci., Dept Biol., Fukuoka 8128581, Japan.

1999 *Neuroscience Letters*, Vol. 264(1-3), 85-88. (E)

Nature of the anchors of membrane-bound aminopeptidase, amylase, and trypsin and secretory mechanisms in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) midgut cells.

Nature des ancrages des aminopeptidase, amylase, et trypsine liées aux membranes et mécanismes sécréteurs dans les cellules de l'intestin moyen de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera).

JORDAO B.P., CAPELLA A.N., TERRA W.R., RIBEIRO A.F., FERREIRA C.

University Sao Paulo, Inst Biociencias, Dept Fisiol, CP 11461, BR-05422970 Sao Paulo, Brazil.

1999 *Journal of Insect Physiology*, Vol. 45(1), 29-37. (E)

Primary structure and possible functions of a trypsin inhibitor of *Bombyx mori*.

Structure primaire et fonctions possibles d'un inhibiteur de trypsine de *Bombyx mori*.

KURIOKA A., YAMAZAKI M., HIRANO H.

1999 *European Journal of Biochemistry*, Vol. 259(1-2), 120-126. (E)

Ecdysone 2-monooxygenase activity during larval-pupal-adult development of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*.

Activité d'ecdysone monooxygénase pendant le développement larve - chrysalide - adulte de *Manduca sexta*.

MITCHELL M.J., CROOKS J.R., KEOGH D.P., SMITH S.L.

Bowling Green State Univ, Dept Biol Sci, Bowling Green, OH 43403, USA.

1999 *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 41(1), 24-32. (E)

Substrate specificity of the epoxidation reaction in sex pheromone biosynthesis of the Japanese giant looper (*Lepidoptera* : *Geometridae*).

Spécificité du substrat de la réaction d'époxydation dans la biosynthèse des phéromones sexuelles de la chenille arpeuteuse géante japonais (*Lepidoptera* : *Geometridae*).

MIYAMOTO T., YAMAMOTO M., ONO A., OHTANI K., ANDO T.

Tokyo University Agri. and Technol, Grad Sch Bioapplicat and Syst Engn, Tokyo 1848588, Japan.

1999 Insect Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 29(1), 63-69. (E)

Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Impact toxique des insecticides organophosphorés sur l'activité de l'acétylcholine estérase chez le ver à soie, *Bombyx mori* L.

NATH B.S., KUMAR R.P.S.

Central Silk Board, 6th Floor, BTM Layout, Bangalore 560068, Karnataka, India.

1999 Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 42(2), 157-162. (E)

A pattern recognition protein for peptidoglycan - Cloning the cDNA and the gene of the silkworm, *Bombyx mori*.

Une protéine de reconnaissance de peptidoglycan - Clonage de l'ADNc et du gène du ver à soie, *Bombyx mori*.

OCHIAI M., ASHIDA M.

Hokkaido Univ., Inst Low Temp Sci, Sapporo, Hokkaido 0600819, Japan.

1999 Journal of Biological Chemistry, Vol. 274(17), 11854-11858. (E)

Occurence of immunoreactive estradiol-positive material in the haemolymph and ovary of the tasar silkworm, *Antheraea mylitta*.

Présence de matériel immunoréactif oestradiol-positif dans l'hémolymph et les ovaires du ver à soie tasar, *Antheraea mylitta*.

RAVIKUMAR G., THANGAVELU K.

Care of Tamura T., Natl Inst Sericulture and Entomol Scie, Lab Gene Engn, Owashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 3058634, Japan.

1998 Invertebrate Reproduction and Development, Vol. 34(2-3), 321-322. (E)

Prophenoloxidase-activating enzyme of the silkworm, *Bombyx mori*. Purification, characterization, and cDNA cloning.

Enzyme activant la prophénoloxydase du ver à soie, *Bombyx mori*. Purification, caractérisation et clonage d'ADNc.

SATOH D., HORII A., OCHIAI M., ASHIDA M.

Hokkaido University, Inst Low Temp Sci, Biochem Lab, Sapporo, Hokkaido 0600189, Japan.

1999 Journal of Biological Chemistry, Vol. 274(11), 7441-7453. (E)

Diapause-associated transcription of BmEts, a gene encoding an ETS transcription factor homolog in *Bombyx mori*.

Transcription de BmEts associée à la diapause, un gène codant un homologue du facteur de transcription ETS chez *Bombyx mori*.

SUZUKI M.G., TERADA T., KOBAYASHI N., SHIMADA T.

University Tokyo, Grad Sch Agr and Life Sci, Dept Agr and Environm Biol, Bunkyo Ku, Yayoi 1-1-1, Tokyo 1138657, Japan.

1999 Insect Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 29(4), 339-347. (E)

Stereochemistry of lepidopteran sex pheromone biosynthesis: a comparison of fatty acid CoA Delta 11-(Z)-desaturases in *Bombyx mori* and *Manduca sexta* female moths.

Stéréochimie et biosynthèse de la phéromone sexuelle de lépidoptères : une comparaison entre les CoA Delta 11-(Z)-désaturases du corps gras des papillons femelles de *Bombyx mori* et de *Manduca sexta*.

SVATOS A., KALINOVA B., BOLAND W.

Max Planck Inst. Chem. Ecol., Tatzendpromenade 1A, D-07745 Jena, Germany.

1999 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 29(3), 225-232. (E)

Variability of metabolism and function of sterols in insects.

Variabilité du métabolisme et fonction des stérols chez les insectes.

SVOBODA J.A.

1999 *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 34(1), 49-57. (E)

Lipid transfer particle catalyzes transfer of carotenoids between lipophorins of *Bombyx mori*.

Particules de transfert de lipides catalisant le transfert de caroténoïdes entre les lipophorins de *Bombyx mori*.

TSUCHIDA K., ARAI M., TANAKA Y., ISHIHARA R., RYAN R.O., MAEAKAWA H.

National Institut Infect Dis, Div Radiol Protect and Biol, Shinjuku Ku, Tokyo 1628640, Japan.

1998 *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 28(12), 927-934. (E)

Innate immunity in insects: The role of multiple, endogenous serum lectins in the recognition of foreign invaders in the cockroach, *Blaberus discoidalis*.

Immunité innée chez les insectes : le rôle des lectines endogènes sériques multiples dans la reconnaissance d'envahisseurs étrangers chez le cafard, *Blaberus discoidalis*.

WILSON R., CHEN C.W., RATCLIFFE N.A.

University Wales, Sch Biol Sci, Biomed and Physiol Res Grp, Singleton Pk, Swansea SA2 8PP, W. Glam, Wales.

1999 *Journal of Immunology*, Vol. 162(3), 1590-1596. (E)

A novel inhibitor protein for *Bombyx* cysteine proteinase is homologous to propeptide regions of cysteine proteinases.

Une nouvelle protéine inhibitrice de la protéase à cystéine de *Bombyx* est homologue aux régions des propeptides des protéinases à cystéine.

YAMAMOTO Y., WATABE S., KAGEYAMA T., TAKAHASHI S.Y.

Yamaguchi University, Coll Agr, Dept Biochem and Radiat Biol, Yamaguchi 753, Japan.

1999 *FEBS Letters*, Vol. 448(2-3), 257-260. (E)

Sexual difference of the hydrogen peroxide metabolism silkworm.

Différence sexuelle dans le métabolisme du peroxyde d'hydrogène chez le ver à soie.

ZHAO L. *et al.*

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 126-128. (C)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Regulatory properties of phosphofructokinase in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Propriétés régulatrices de la phosphofructokinase dans les oeufs de ver à soie, *Bombyx mori*.

FURUSAWA T. *et al.*

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 66-8585, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 181-194. (J,e)

Ecdysone 20-monooxygenase in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*: enzymatic properties and developmental changes.

Ecdysone monooxygénase dans les oeufs du ver à soie, *Bombyx mori* : propriétés enzymatiques et changements au cours du développement.

HORIKE N., SONOBE H.

Konan University, Dept Biol, Kobe, Hyogo 6588501, Japan.

1999 *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol. 41(1), 9-17. (E)

Reduction of glycogen in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, by use of a trehalase inhibitor, trehazolin, and diapause induction in glycogen-reduced eggs.

Réduction de glycogène dans les oeufs du ver à soie, *Bombyx mori*, en utilisant un inhibiteur de tréhalase, la tréhazoline, et induction de la diapause chez les oeufs au glycogène réduit.

KATAGIRI N., ANDO O., YAMASHITA O.

Nagoya University, Grad Sch Bioagr Sci, Lab Sericulture and Entomoresources, Chikusa Ku, Nagoya, Aichi 4648601, Japan.

1998 *Journal of Insect Physiology*, Vol. 44(12), 1205-1212. (E)

Effects of ooplasmic size on the larval development as observed in the small egg mutant emi of *Bombyx mori*.

Effets de la taille ooplasmique sur le développement larvaire observés dans le petit oeuf du mutant emi de *Bombyx mori*.

KAWAGUCHI Y. *et al.*

Laboratory of Silkworm Sciences, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 245-250. (E)

Changes in content of moulting and juvenile hormones during embryonic development of diapause eggs of silkworm, *Bombyx mori*.

Changements dans la teneur en hormone de mue et en hormone juvénile pendant le développement embryonnaire des oeufs diapausants de vers à soie, *Bombyx mori*.

LI W., FU F., WU Y.

Agronomy College of Sichuan Agricultural University, Ya'an 62514, China.

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 97-101. (C,e)

Artificial insemination and oviposition using cryopreserved sperm in several strains of the silkworm, *Bombyx mori*.

Insémination artificielle et oviposition chez plusieurs lignées de ver à soie *Bombyx mori* en utilisant du sperme congelé.

TAKEMURA Y., KANDA T.

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, 1053 Iikura Amimachi, Ibaraki 300-324, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 327-332. (J,e)

Artificial insemination using trypsin-treated sperm in the silkworm, *Bombyx mori*.

Insémination artificielle utilisant le sperme traité à la trypsine chez le ver à soie, *Bombyx mori*.

TAKEMURA Y., KANDA T., HORIE Y.

Inst Silkworm Genet and Breeding, 1053 Iikura, Ami, Ibaraki 3000324, Japan.

1999 *Journal of Insect Physiology*, Vol. 45(5), 471-477. (E)

Behavior of centrioles during meiosis in the male silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera).

Comportement des centrioles pendant la méiose chez le mâle du ver à soie, *Bombyx mori* (Lepidoptera).

YAMASHIKI N., KAWAMURA N.

Rakuno Gakuen Univ, Biol Lab, 582 Bunkyo-dai Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 0698501, Japan.

1998 *Development Growth and Differentiation*, Vol. 4(6), 619-630. (E)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Expression of elongation factor 1 beta' in *Escherichia coli* and its interaction with elongation factor 1 alpha from silk gland.

Expression du facteur d'allongement beta'1 chez *Escherichia coli* et son interaction avec le facteur d'allongement alpha 1 de la glande séricigène.

KAMIIE K. *et al.*

Aomori University, Fac Engn, Dept Biosci and Biotechnol, Kohhara, Aomori 0300943, Japan.

1999 Bioscience Biotechnology and Biochemistry, Vol. 63(4), 666-671. (E)

Expression pattern analysis of SGF-3/POU-M1 in relation to sericin-1 gene expression in the silk gland.

Analyse du mode d'expression de SGF-3/POU-M1 en relation avec l'expression du gène de la sérécine-1 dans la glande séricigène.

MATSUNAMI K., KOKUBO H., OHNO K., SUZUKI Y.

5651-451 Matsukawa Village, Nagano 3998501, Japan.

1998 Development Growth and Differentiation, Vol. 40(6), 591-597. (E)

Hydrophobic interaction of P25, containing Asn-linked oligosaccharide chains, with the H-L complex of silk fibroin produced by *Bombyx mori*.

Interaction hydrophobique entre P25, contenant des chaînes d'oligosaccharides liées à l'Asn, et le complexe H-L de fibroïne de soie produite par *Bombyx mori*.

TANAKA K., INOUE S., MIZUNO S.

Tohoku Univ., Fac Agr., Mol. Biol. Lab., Aoba Ku, 1-1 Tsutsumidori Amamiyamachi, Sendai, Miyagi 9818555, Japan.

1999 Insect Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 29(3), 269-276. (E)

Biology of spider silk.

Biologie de la soie d'araignée.

VOLLRATH F.

Aarhus Univ., Dept. Zool., Univ. Pk B135; DK-8000 Aarhus C, Denmark.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 81-88. (E)

Soie

Silk

High molecular mass complexes of aquatic silk proteins.

Complexes à haute masse moléculaire des protéines de soie aquatique.

CASE S.T., THORNTON J.R.

Univ. Mississippi, Med. Ctr., Dept. Biochem., 25 N State St., Jakson, MS 39216, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 89-101. (E)

A comparison of the composition of silk proteins produced by spiders and insects.

Une comparaison de la composition des protéines de soie produites par les araignées et les insectes.

CRAIG C.L., HSU M., KAPLAN D., PIERCE N.E.

Harvard Univ., Museum Comparat. Zool., 26 Oxford St., Cambridge, MA 02138, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 109-118. (E)

Swelling and dissolution of silk fibroin (*Bombyx mori*) in N-methyl morpholine N-oxide.

Gonflement et dissolution de la fibroïne de soie (*Bombyx mori*) dans l'oxyde de N-méthyl morpholine.

FREDDI G., PESSINA G., TSUKADA M.

Station Sperimentale Seta, Via G Colombo, I-2133 Milan, Italy.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 251-263. (E)

Silk I structure in *Bombyx mori* silk foams.

Structure I de la soie dans les mousses de soie de *Bombyx mori*.

HE S.J., VALLUZZI R., GIDO S.P.

University Massachusetts, WM Keck Electron Microscopy Lab., Dept Polymer Sci and Engr., Amherst, MA 01003, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 187-195. (E)

Use of *Bombyx mori* silk fibroin as a substratum for cultivation of animal cells.

Utilisation de la fibroïne de soie de *Bombyx mori* comme d'un substrat pour la culture de cellules animales.

INOUE K., KUROKAWA M., NISHIKAWA S., TSUKADA M.

Kyoto University, Grad Sch Agr. Div Appl Life Sci, Sakyo Ku, Kyoto 6068502, Japan.

1998 Journal of Biochemical and Biophysical Methods, Vol. 37(3), 159-164. (E)

Finite element modeling of banded structures in *Bombyx mori* silk fibres.

Modélisation d'élément limité des structures en bandes dans les fibres de soie chez *Bombyx mori*.

JOHNSON M.A., MARTIN D.C.

University Michigan, Ctr Macromol. Sci. and Engr., Ann. Arbor., MI 48109, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 139-144. (E)

Physicochemical properties and dyeing behavior of tussah silk fabrics treated with chitosan/polyvinyl alcohol.

Propriétés physicochimiques et comportement à la teinture des tissus de soie tussah traités avec chitosan / polyvinyl alcool.

KAKO T., KATAYAMA A.

Himeji Junior College, Shinzaikohoncho 1-1-12, Himeji, Hyogo 67-092, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 237-243. (J,e)

Silk symposium - Introduction.

Symposium sur la soie - Introduction.

KAPLAN D., VINEY C., FARMER B., ADAMS W.

1999 *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24(2-3), 79. (E)

Liquid crystals and flow elongation in a spider's silk production line.

Cristaux liquides et flux d'allongement chez une lignée de production de soie d'araignée.

KNIGHT D.P., VOLLRATH F.

University Aarhus, Dept Zool, Univ Pk B135, DK-8000 Aarhus C, Denmark.

1999 *Proceeding of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, Vol. 266(1418), 519-523. (E)

Studies on the heredity of the proportion of cocoon shell sericin in silkworm (*Bombyx mori* L.).

Études sur l'hérédité de la proportion de sérécine dans la coque du cocon chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.).

LIN C. *et al.*

1999 *Canye Kexue*, Vol. 25(2), 129-131. (C)

On the continuous distribution of non-broken filament length of cocoon.

Sur la distribution continue de la longueur du filament du cocon sans rupture.

LUN B., JIANMIN W., ZHAO Z.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(3), 209-215. (J)

Design and production of new composite raw silk from *Antheraea yamamai* and *Bombyx mori*.

Conception et production d'un nouveau composite de soie grège à partir d'*Antheraea yamamai* et *Bombyx mori*.

MATSUMOTO Y. *et al.*

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University 3-15-1, Tokida, Ueda 386-8567, Japan.

1999 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 68(4), 279-288. (E,j)

Microvoids in *Bombyx mori* silk. An electron microscope study.

Microvides de la soie chez *Bombyx mori*. Une étude au microscope électronique.

ROBSON R.M.

University Leeds, Text. Phys. Lab., Leeds LS2 9JT, W Yorkshire, England.

1999 *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 24(2-3), 145-150. (E)

Two concentric protein shell structure with spikes of silkworm *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus revealed by small-angle neutron scattering using the contrast variation method.

Deux structures de protéine de la coque concentriques avec pointe du virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie *Bombyx mori* révélées par la dispersion de neutrons utilisant la méthode de variation des contrastes.

TOMITA M. *et al.*

Yokohama Cty Univ, Grad Sch Integrated Sci, Kanazawa Ku, 22-2 Seto, Yokohama, Kanagawa 2360027, Japan.

1999 Journal of Biochemistry, Vol. 125(5), 916-922. (E)

Orientation of silk III at the air-water interface.

Orientation de la soie III à l'interface air-eau.

VALLUZZI R., GIDO S.P., MULLER W., KAPLAN D.L.

University Massachusetts, Dept. Polymer Sci and Engr, WM Keck Electron Microscopy Lab., Amherst, MA 01003, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 237-242. (E)

***Bombyx mori* silk fibroin liquid crystallinity and crystallization at aqueous fibroin-organic solvent interfaces.**

Crystallinité liquide de la fibroïne de soie de *Bombyx mori* et cristallisation aux interfaces fibroïne aqueuse - solvants organiques.

VALLUZZI R., HE S.J., GIDO S.P., KAPLAN D.

University Massachusetts, Dept Polymer Sci and Engr, Amherst, MA 01003, USA.

1999 International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 24(2-3), 227-236. (E)

Research on fibroin protein membrane as material of medicine release control.

Recherche sur la membrane de fibroïne comme matériel de contrôle de relargage en médecine.

ZHANG Y., WANG Z., DING Y., LU S., XU G.

Silk College, Suzhou University, Suzhou 215021, China.

1999 Canye Kexue, Vol. 25(3), 181-185. (C,e)

Studies on immobilization of saccharogenic amylase with silk fibroin.

Etudes de l'immobilisation de l'amylase saccharogène sur la fibroïne de soie.

ZHU X., XU J.

Department of Sericulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

1999 Canye Kexue, Vol. 25(2), 113-119. (C,e)

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**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

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

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

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

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.
- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.
- Remerciements.
- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4ème édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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**. 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. Serie. 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.

* * *