تأثیر چهار رقم برگ توت بر عملکرد کرم ابریشم *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)

علی صادقی خامنه تبریزی[۱]، جلال جلالی سندی[۲و۳*]، سهراب ایمانی[۱] و علی احدیت[۱]

[۱] ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه گیاه‌پزشکی

[۲] ایران، گیلان، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی

[۳] ایران، گیلان، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم کشاورزی، گروه پژوهشی ابریشم

تاریخ دریافت: ۹۸/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۳۰

چکیده

این تحقیق باهدف بررسی تأثیر رقم‌های مختلف برگ توت به نام‌های ایچی‌نویسه، کن‌موچی، کاینز و محلی گیلان روی خصوصیات بیوشیمیایی، تغذیه‌ای و اقتصادی کرم ابریشم هیبرید ۱۰۴*۱۰۳ انجام گرفت. مطالعه حاضر در تلاش است که رقم برگ توت مناسبی را برای هیبرید ۱۰۴*۱۰۳ انتخاب کند. تخم نوغان هیبرید ۱۰۴*۱۰۳ از مرکز تحقیقات ابریشم تهیه و بر اساس روش‌های رایج پرورش کرم ابریشم در شرایط (درجه حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، ۷۰ درصد رطوبت و ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی:تاریکی) پرورش داده شدند. بررسی حاضر نشان داد که کرم‌های ابریشم با تغذیه از رقم کاینز که حاوی بیشترین مقدار پروتئین بود در مقایسه با سایر رقم‌ها بهترین شاخص‌های اقتصادی را نشان داد. وزن انفرادی و کل پیله‌ها و عملکرد پیله به ازای ده هزار لارو به‌صورت معنی‌داری در لاروهای تغذیه شده با رقم کاینز بیشتر بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین بالاترین سطح شاخص‌های تغذیه‌ای مانند کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI)، کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD)، نرخ رشد نسبی (RGR) و شاخص مصرف (CI) در لاروهای تغذیه شده روی رقم کاینز مشاهده شد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدان در لاروهای تغذیه شده از رقم‌های مذکور متفاوت بودند. نتایج این تحقیق به‌طور واضح نشان داد که رقم کاینز می‌تواند برای پرورش کرم ابریشم در زمینه شاخص‌های مطالعه شده مناسب معرفی شود.

واژه‌های کلیدی: کرم ابریشم، رقم‌های توت، شاخص‌های اقتصادی و شاخص‌های تغذیه‌ای

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۳۳۰۹۵۷۴، پست الکترونیکی: jjalali@guilan.ac.ir

مقدمه

ابریشم یک محصول فیبری از جنس پروتئین است که علاوه بر کرم ابریشم توسط کنه‌ها، عنکبوت‌ها و عقرب‌ها نیز تولید می‌شود (۱۵). این محصول یک منبع بیوتکنولوژیکی و بیوشیمیایی مهمی از لحاظ خصوصیاتی از قبیل تجزیه‌پذیری و سازگاری با محیط‌زیست و غیرسمی بودن محسوب می‌شود (۱۰). ابریشم حاوی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی فراوانی است و در علوم مختلفی مانند پزشکی، زیبایی و آرایشی، بهداشت و مواد غذایی استفاده می‌شود (۲۵، ۴۳ و ۵۰). کیفیت غذای مصرفی توسط کرم ابریشم، تأثیر مستقیم بر فیزیولوژی و زیست‌شناسی این حشره داشته و درنتیجه با میزان تولید پیله، رابطه مستقیم دارد (۳۹).

تولید ابریشم طبیعی در ایران نقش مهمی در بهبود اقتصاد روستایی دارد و کیفیت و کمیت ابریشم تولیدی بیشتر به تغذیه لاروها وابسته است (۱۸). کیفیت و کمیت تغذیه لاروهای کرم ابریشم روی رشد، نمو و تولیدمثل این حشره مؤثر است (۲۱ و ۴۴). تفاوت در کیفیت ارقام مختلف

برگ توت که ناشی از تفاوت در میزان محتویات بیوشیمیایی آن از قبیل میزان پروتئین، گلوکوز، فسفر و پتاسیم است (۶ و ۲۷)، تأثیر مستقیم بر عملکرد پرورش کرم ابریشم دارد (۵).

فیزیولوژی تغذیه در کرم ابریشم روی مراحل مختلف زندگی این حشره مانند: وزن لاروی، شفیره و پیله، مقدار ابریشم تولید شده، باروری حشرات بالغ و نرخ تفریخ تخم‌ها تأثیر می‌گذارد (۳۹). تغذیه با برگ‌های توت با کیفیت پایین باعث رشد کم و کاهش تولید می‌شود (توانایی هضم و تبدیل عناصر غذایی به زیست توده و شاخص رشد نسبی تعیین کننده عملکرد حشره می‌باشد (۳۵). عامل اصلی تعیین کننده عملکرد چرخه زیستی کرم ابریشم محتوای پروتئینی برگ‌های توت می‌باشد (۳۴).

برگ‌های توت منبعی از پروتئین، هیدروکربن‌ها، ویتامین‌ها، استرول‌ها، املاح معدنی و محرک اشتهای این حشره می‌باشند. کربوهیدرات‌ها برای حفظ سلامتی و رشد لاروهای جوان اهمیت دارند. چربی‌ها شکل اصلی ذخیره انرژی هستند و در زمان گرسنگی حشره بسیار اهمیت دارند. تأثیر خوب غذایی ویتامین‌ها مانند اسید آسکوربیک، املاح معدنی و متابولیت‌ها روی عملکرد کرم ابریشم، خصوصیات اقتصادی، باروری و تولیدمثل آن، توسط محققین مختلفی مورد مطالعه قرار گرفته است (۶، ۹ و ۱۶). باوجود اینکه مطالعات زیادی روی ترکیبات شیمیایی رقم‌های مختلف برگ توت انجام‌شده است، ولی تحقیقات در زمینه تأثیر تغذیه بر عملکرد بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات اقتصادی مهم کرم ابریشم مورد توجه قرارنگرفته است. از آنجایی که کیفیت منبع غذایی، تأثیر مهمی در تغییرات خصوصیات بیوشیمیایی، فعالیت آنتی-اکسیدانی (بالابودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نشان‌دهنده نامطلوب‌بودن کیفیت منبع غذایی حشره است (۳۰ و ۳۶) و همچنین خصوصیات اقتصادی کرم ابریشم دارد (۴۱)، بنابراین مطالعه این شاخص‌ها می‌تواند در تعیین کیفیت منبع غذایی کرم ابریشم بسیار مهم باشد. دراین مطالعه، تأثیر سه رقم وارداتی برگ توت شامل کاینز، کن‌موچی، ایچی‌نویسه و یک رقم محلی گیلان بر عملکرد شاخص-های تغذیه‌ای، فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و همچنین خصوصیات اقتصادی کرم ابریشم مقایسه شدند.

مواد و روشها

دراین مطالعه چهار رقم برگ توت شامل ایچی‌نویسه، کن موچی، کاینز (این سه رقم، از رایج‌ترین رقم‌های وارداتی توت در پرورش کرم ابریشم هستند) و محلی گیلان (که در پرورش کرم ابریشم در دسترس است) از مرکز تحقیقات ابریشم ایران، پسیخان –رشت تهیه و در آزمایش‌ها به کار گرفته شدند.

پرورش حشرات: تخم نوغان هیبرید ۱۰۴*۱۰۳ از مرکز تحقیقات ابریشم تهیه و بر اساس روش‌های رایج پرورش کرم ابریشم در شرایط (درجه حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، ۷۰ درصد رطوبت و ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی:تاریکی) پرورش داده شدند (۱۸).

اندازه‌گیری شاخص‌های بیولوژیکی و شاخص‌های اقتصادی: بررسی تأثیر ارقام استفاده شده در شاخص‌های بیولوژیکی و اقتصادی نظیر وزن لاروی روزانه ترازوی دقیق، تعداد کل پیله‌ها، تعداد پیله‌های خوب، تعداد پیله-های خوب با شفیره زنده و تلف شده، وزن پیله (نر، ماده، کل و انفرادی)، عملکرد پیله به ازای ده هزار لارو و وزن قشر پیله مورد ارزیابی قرارگرفت. توزین با استفاده از ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام گرفت.

ارزیابی شاخص‌های تغذیه: شاخص‌های تغذیه اندازه-گیری شده شامل: شاخص قابلیت هضم نسبی (Approximate digestibility) (AD)، کارایی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (Efficiency of conversion of ingested food) (ECI)، کارایی تبدیل غذای هضم شده (Efficiency of conversion of digested food) (ECD)،

نرخ رشد نسبی (Relative growth rate) (RGR) و شاخص مصرف (Consumption index) (CI) بود و توسط معادلات زیر اندازه‌گیری شد (۵۳).

شاخص قابلیت هضم نسبی:

$$AD = \frac{E-F}{E} \times 100 \quad (۱)$$

کارایی تبدیل غذای خورده شده به ذی‌توده:

$$ECI = \frac{P}{E} \times 100 \quad (۲)$$

کارایی تبدیل غذای هضم شده به ذی‌توده حشره:

$$ECD = \frac{P}{E-F} \times 100 \quad (۳)$$

نرخ رشد نسبی:

$$RGR = \frac{A}{T} \quad (۴)$$

شاخص مصرف:

$$CI = \frac{E}{T} \quad (۵)$$

E= وزن خشک غذای خورده شده (میلی‌گرم)

F= وزن خشک فضولات تولید شده (میلی‌گرم)

P= وزن خشک بیوماس لارو (میلی‌گرم)

A= میانگین وزن خشک لاروها در مدت‌زمان T

T= مدت‌زمان آزمایش

بررسی بیوشیمیایی همولنف لاروها: برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی از لاروهای سن پنجم که از برگهای متفاوت تغذیه شده بودند، استفاده شد.

تعیین میزان ذخایر انرژی

گلوکز: برای اندازه‌گیری گلوکز از روش سیگرت (۴۲) استفاده شد. در این روش اندازه‌گیری بر پایه واکنش‌های آنزیمی است و با تأثیر گلوکز اکسیداز بر گلوکز سبب تشکیل اسید گلوکورونیک و پراکسید هیدروژن می‌شود. سپس پراکسید هیدروژن تولید شده با تأثیر آنزیم پراکسیداز و در حضور ۴-آمینوفنازن و فنل تشکیل یک محلول رنگی می‌کند. جهت ثبت گلوکز موجود در نمونه، محتوی لوله‌ها از طریق اندازه‌گیری جذب رنگ حاصله در طول‌موج ۵۴۵ نانومتر در مقایسه با محلول استاندارد و با دستگاه الایزا ریدر (AWARENESS Stat Pax 3200 Co., USA) قرائت شد.

تری‌گلیسرید: اندازه‌گیری تری‌گلیسرید با استفاده از کیت (Biochem، تهران-ایران) مبتنی بر روش (۱۱) انجام شد. پنجاه میکرولیتر معرف و ۳۰ میکرولیتر محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ اجسام چربی و آب‌مقطر به‌عنوان شاهد، جداگانه در پلیت الیزا ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. در نهایت، میزان تری‌گلیسرید تحت طول‌موج ۵۴۵ نانومتر خوانده شد.

پروتئین: اندازه‌گیری میزان پروتئین با استفاده از روش لوری و همکاران (۲۳) انجام شد. براساس کیت شرکت زیست‌کم (ZiestChem Co., Tehran-Iran)، ۵۰ میکرولیتر معرف با ۳۰ میکرولیتر استاندارد (پروتئین سرم گاوی به غلظت ۵۰ میلی‌گرم) و ۵۰ میکرولیتر معرف با ۳۰ میکرولیتر از هر نمونه جداگانه به‌مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد و جذب تحت ۵۴۵ نانومتر قرائت شد. سپس جذب نمونه برجذب استاندارد تقسیم شده و در عدد ۵۰ به‌عنوان غلظت استاندارد ضرب شد (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده). مقدار حاصل به‌عنوان میلی‌گرم پروتئین بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی: آنزیم‌ها پیش برنده واکنش‌های شیمیایی و بیوشیمیایی مختلف در بدن موجودات زنده هستند و نقش بسیار مهمی در رشد و نمو و تولیدمثل دارند. به همین دلیل برای محاسبه فعالیت آنزیم‌ها، همولنف حشرات مورد آزمایش با قطع یکی از پاهای کاذب شکمی در داخل اپندورف جمع‌آوری و سپس با محلول ۱ درصد فنل تیو

اوره مخلوط شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا قبل از شروع آزمایش نگهداری شد. همچنین دستگاه گوارش لاروهای سن پنجم، تشریح و در آب مقطر و به‌صورت انفرادی در لوله اپندورف قرار داده شد و سپس تحت دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. برای شروع آزمایش‌ها ابتدا نمونه‌ها با هموژنایزر دستی همگن شد و سپس تحت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. مایع رونشین به‌عنوان منبع آنزیمی مورد استفاده قرارگرفت. برای آماده سازی جهت برآورد آنزیم‌های گوارشی، ماده ته‌نشین سانتریفیوژ اول با ترایتون ایکس-۱۰۰ (۱۰ میلی‌گرم ترایتون ایکس- ۱۰۰ به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) به مدت ۲۰ ساعت تحت دمای ۴ درجه سلسیوس انکوبه شد و سپس در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه و تحت دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و به‌عنوان منبع آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (۴۸).

تعیین فعالیت آلفا-آمیلاز: فعالیت آلفا-آمیلاز با استفاده از روش ۳ و۵ دی‌نیتروسالیسیلیک اسید (DNS) و محلول نشاسته ۱ درصد به‌عنوان سوبسترا اندازه‌گیری شد (۳). سی میکرولیتر از هر نمونه آنزیمی با ۸۰ میکرولیتر بافر (اسیدیته ۷، گلیسین، سوکسینات و ۲-مورفولینو اتان سولفوریک اسید؛ ۲۰ میلی‌مولار) و ۵۰ میکرولیتر نشاسته به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیترDNS و حرارت دادن مخلوط واکنش به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش متوقف شده و جذب تحت طول‌موج ۵۴۵ نانومتر قرائت شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد و محلول استاندارد شامل مخلوط واکنش فاقد آنزیم بود.

تعیین فعالیت آلفا و بتا- گلوکوزیداز: برای تعیین فعالیت آلفا و بتا گلوکوزیداز از p-nitrophenyl- α- Dglucopyranoside (pNαG) به‌عنوان سوبسترای آلفا-گلوکوزیداز و p-nitrophenyl-β-D-glucopyranoside (pNβG) به‌عنوان سوبسترای بتا-گلوکوزیداز استفاده شد (۳۸ و ۴۳). برای این منظور، ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های آنزیمی محلول و متصل به غشاء به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰ میکرولیتر بافر یونیورسال (اسیدیته‌ی ۷) و ۳۰ میکرولیتر سوبسترای آلفا و بتا- گلوکوزیداز به‌طور جداگانه انکوبه شدند و جذب تحت طول‌موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد و محلول استاندارد شامل مخلوط واکنش و فاقد آنزیم بود.

تعیین فعالیت تری‌آسیل‌گلیسرید- لیپاز: برای اندازه‌گیری فعالیت تری‌آسیل‌گلیسرید-لیپاز (TAG-Lipase) ،ابتدا بیست میکرولیتر از عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر پارانیتروفنیل بوتیرات (p-nitrophenyl butyrate) ۲۷ میلی-مولار (به‌عنوان سوبسترا) با ۵۰ میکرولیتر بافر یونیورسال (اسیدیته ۷) ترکیب شده و به‌مدت ۷ دقیقه انکوبه شدند و جذب در ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (۵۵).

تعیین فعالیت پروتئازهای اختصاصی

سرین پروتئینازها (اندوپپتیدازها): فعالیت پروتئینازهای تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز به‌عنوان سه زیرگروه از سرین پروتئینازها با استفاده از غلظت یک میلی‌مولار از BApNA (Nabenzoyl- L- arginine- p- nitroanilide) به‌عنوان سوبسترای اختصاصی تریپسین، SAAPPpNA (N-succinyl- alanine- alanine- proline- phenylalanine- p- nitroanilide) به‌عنوان سوبسترای اختصاصی کیموتریپسین و SAAApNA (N- succinyl- alanine- alanine- alanine- p- nitroanilide) به‌عنوان سوبسترای اختصاصی الاستاز اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۸۰ میکرولیتر بافریونیورسال (اسیدیته ۱۰)، ۵۰ میکرولیتر از سوبستراهای ذکر شده و ۳۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی بود (۳۱). مخلوط واکنش به مدت ۱۰ دقیقه تحت ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه شده و در نهایت در طول‌موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد.

تعیین فعالیت سایر آنزیم‌ها

آنزیم‌های حد واسط: این آزمایش یک آزمایش رنگ-سنجی با استفاده از ۲،۴-دی‌نیتروفنیل هیدرازین به منظور تولید پیروات هیدرازین توسط ترکیب پیروات با ۲،۴-دی-نیتروفنیل پیروات می‌باشد (۲۹ و ۴۵). باتوجه به کیت تولید شده توسط کمپانی Biochem (تهران، ایران)، واکنشگر A برای آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و واکنشگر B برای آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به‌صورت جداگانه با واکنشگر D به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول آنزیم به آن اضافه شده و به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد. در پایان واکنشگر C به آن اضافه شده و جذب در ۳۴۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت خاص این آنزیم‌ها با توجه به محتویات پروتئین در نمونه-ها و طول‌موج جذب‌شده محاسبه شد.

جهت تعیین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز براساس هیدرولیز نیتروفنیل فسفات توسط آنزیم آلکالاین فسفاتاز و در نهایت تولید نیتروفنیل انجام و از (p-nitrophenylphosphate) به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. سپس انکوباسیون نمونه و سوبسترا در ۳۷ درجه سلسیوس، تغییرات جذب نوری در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر ثبت و با مقایسه تغییرات جذب نوری با منحنی استاندارد فعالیت سرمی آلکالین فسفاتاز تعیین شد. در مرحله‌ی بعد نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری تحت ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز دوباره به روش فوق در اندازه‌گیری شد. تفاضل فعالیت آنزیمی در شرایط اولیه و پس از حرارت دادن، نشان‌دهنده فعالیت آنزیمی آلکالین فسفاتاز بود.

تعیین فعالیت گلوتاتیون ترانسفراز: برای اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون ترانسفراز (GST)، بعد از قرار دادن نمونه‌ی سانتریفیوژ شده، ۲۰ میکرولیتر سوبسترای CDNB(1-chloro-2,4-dinitrobenzene) ۲۰ میلی‌مولار و DCNB (1,2-Dichloro-4-nitrobenzene) ۴۰ میلی‌مولار به‌صورت جداگانه به میکروپلیت انتقال یافتند. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول آنزیمی به آن اضافه و جذب تحت طول‌موج ۳۴۰ نانومتر در زمان‌های مختلف قرائت شد (۱۳).

تعیین فعالیت پراکسیداز: جهت تعیین فعالیت پراکسیداز (POX) ۵۰ میکرولیتر از نمونه به ۲۵۰ میکرولیتر بافر پیروگالو (۰/۰۵مولار پیروگالو در ۰/۱مولار بافر فسفات با pH ۷ و ۲۵۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۱درصد) اضافه شده و جذب در هر ۳۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه تحت طول‌موج ۴۳۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت این آنزیم توسط ضریب خنثی‌سازی پیروگالو اکسیده شده اندازه‌گیری شد (۱).

تجزیه‌وتحلیل آماری: کلیه داده‌های به دست آمده تحت نرم‌افزار اکسل ثبت شد. برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. آنالیز واریانس با (ANOVA) انجام شد. همچنین برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ از روش مقایسه‌های چندگانه Tukey استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های اقتصادی: کلیه‌ی شاخص‌های اقتصادی به‌استثناء تعداد کل پیله تولیدی در لاروهای تغذیه شده با رقم کاینز در بالاترین سطح نسبت به دیگر رقم‌ها بود (جدول ۱). وزن‌تر لاروهای سن پنجم به ترتیب دارای بالاترین مقدار در کاینز و کن موچی (۱/۹۵۷ و ۱/۹۱ گرم) (df = ۳ ،P= ۰/۰۰۰۱ ،F= ۲۴/۶۷) بودند. وزن خشک لاروی در سن پنجم به ترتیب دارای بالاترین مقدار در کاینز (۰/۴۴۶ گرم) و کن موچی (۰/۳۹۳ گرم) (۱۰/۱۹ =F، ۰/۰۰۴ =P، ۳ =dF) نسبت به بقیه لاروهای تغذیه شده با دیگر رقم‌ها بود. رقم کاینز بیشترین مقدار کل پیله تولیدی را از خود نشان داد (۲۶/۳۳۳) و بین رقم‌های

مختلف برگ توت فقط با رقم کن‌موچی (۱۶/۳۳۳) دارای تفاوت معنی‌دار بود (F= ۴/۴۶، P= ۰/۰۴، dF= ۳). تعداد کل پیله‌های خوب در رقم کن‌موچی (۱۲/۰۰) در مقایسه با سایر رقم‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر گزارش شد (F= ۶/۶۴، P= ۰/۰۱۵، dF= ۳). بالاترین تعداد پیله‌های خوب با شفیره زنده به ترتیب روی کاینز و ایچی نویسه مشاهده شد (F= ۷/۵۴، P= ۰/۰۱، dF= ۳) و کمترین تعداد پیله خوب با شفیره تلف شده روی رقم ایچی‌نویسه مشاهده شد (F= ۰/۱۶، P= ۰/۹۲، dF= ۳). لاروهای کرم ابریشم پرورش یافته روی رقم کاینز بالاترین وزن پیله خوب با شفیره نر را دارا بودند (۱/۱۳۹ گرم)، تفاوت معنی‌داری بین رقم‌های کن‌موچی و ایچی‌نویسه مشاهده نشد، ولی کلیه رقم‌های غیرمحلی ازنظر این صفت در سطح بالاتری نسبت به رقم محلی قرارگرفتند (F= ۴/۷۳، P= ۰/۰۳۵، dF= ۳). در همین راستا بالاترین وزن پیله‌های خوب با شفیره ماده روی رقم کاینز دیده شد (۱/۲۹۹ گرم) (F= ۱۵/۳۰، P= ۰/۰۰۱، dF= ۳). پایین‌ترین وزن تعداد کل پیله در لاروهای تغذیه شده روی رقم کن‌موچی (۱۸/۰۱۳ گرم) بدست آمد (F= ۲۳/۲۰، P= ۰/۰۰۱، dF= ۳). وزن متوسط یک پیله در لاروهای تغذیه شده به ترتیب روی رقم محلی و ایچی-نویسه کمتر بود (F= ۱۱/۴۱، P= ۰/۰۰۳، dF= ۳). همچنین عملکرد پیله به ازای ده هزار لارو بیشترین تعداد را در لاروهای تغذیه شده روی کاینز نشان داد (۱۲۱۹۰ گرم) (F= ۱۱/۴۱، P= ۰/۰۰۳، dF= ۳) (جدول ۱).

جدول ۱- شاخص‌های بیولوژیکی و اقتصادی مختلف لارو ابریشم *Bombyx mori* هیبرید ۱۰۳*۱۰۴، تغذیه شده با رقم‌های مختلف توت

شاخص‌های اقتصادی	رقم‌ها			
	ایچی‌نویسه	کن‌موچی	کاینز	محلی
وزن‌تر لارو سن پنجم (گرم)	۱/۱۸۱±۰/۰۵۵ ab	۱/۹۱±۰/۰۸۵ ab	۱/۹۵۷ ±۰/۰۵۸a	۱/۶۰۳ ±۰/۰۸۱b
وزن خشک لارو سن پنجم (گرم)	۰/۳۰۵ ±۰/۰۱۲c	۰/۳۹۳±۰/۰۰۸ab	۰/۴۴۶ ±۰/۰۱۸a	۰/۳۵۲±۰/۰۲۹bc
تعداد کل پیله	۲۵/۳۳۳±۳/۸۴۴ ab	۱۶/۳۳۳ ±۰/۸۸۱b	۲۶/۳۳۳±۱/۲۰۲a	۲۴/۳۳۳±۱/۳۳۳ab
تعداد کل پیله خوب	۲۲/۳۳۳±۳/۷۵۶a	۱۲/۰۰۰±۱/۵۲۷b	۲۴/۶۶۷±۱/۴۵۳a	۲۲/۳۳۳±۰/۸۸۲a
تعداد پیله خوب با شفیره زنده	۲۰/۰۰۰±۳/۷۸۶a	۹/۰۰۰±۰/۵۷۷b	۲۱/۶۶۷±۱/۲۰۲a	۱۹/۳۳۳±۱/۲۰۲a
تعداد پیله خوب با شفیره مرده	۲/۳۳۳±۰/۳۳۳a	۳/۰۰۰±۱/۰۰۰a	۳/۰۰۰±۱/۱۵۵a	۳/۰۰۰±۰/۵۷۷a
وزن پیله خوب با شفیره نر (گرم)	۱/۰۶۱۷±۰/۰۵۵ ab	۱/۱۰±۰/۰۲۶۵ ab	۱/۱۳۹±۰/۰۱۳۹ a	۰/۹۹۵±۰/۰۷۵ b
وزن پیله خوب با شفیره ماده (گرم)	۱/۲۴۸۳±۰/۰۱۸۶ a	۱/۲۵۸۳±۰/۰۳۰۶ a	۱/۲۹۹۰±۰/۰۳۴۸ a	۱/۰۶۰۷±۰/۰۷۹۸ b
وزن کل پیله (گرم)	۲۷/۵۹۴±۲/۳۴a	۱۸/۰۱۳±۱/۲۲b	۲۸/۸۷۶±۲/۱۳a	۲۵/۲۸۴±۰/۸۲۳ab
میانگین وزن یک پیله (گرم)	۱/۱۵۵۰±۰/۰۳۶۱ a	۱/۱۷۹۲±۰/۰۰۹ a	۱/۲۱۹۰±۰/۰۲۴۱ a	۱/۰۲۷۸±۰/۰۷۲۷ a
عملکرد پیله برای ۱۰۰۰۰ لارو (گرم)	۱۱۵۵۰±۳۶۱ a	۱۱۷۹۲±۲۹ a	۱۲۱۹۰±۲۴۱ a	۱۰۲۷۸±۷۲۷ b
وزن قشر پیله خوب با شفیره نر (گرم)	۰/۲۲۴±۰/۰۰۸ab	۰/۲۷۵±۰/۰۲۶a	۰/۲۴۵±۰/۰۱۴ab	۰/۲۰۴ ±۰/۰۱۲ b
وزن قشر پیله خوب با شفیره ماده (گرم)	۰/۲۴۴±۰/۰۰۸ab	۰/۲۵۲ ±۰/۰۰۹a	۰/۲۵۰±۰/۰۱۸ab	۰/۲۰۸ ±۰/۰۰۹b

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن آنها در سطح (P < ۰/۰۵) براساس آزمون مقایسه‌های چندگانه Tukey

شاخص‌های تغذیه‌ای: جدول ۲ نشان‌دهنده شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن پنجم کرم ابریشم تغذیه شده روی ارقام ایچی‌نویسه، کن موچی، کاینز و محلی می‌باشد. نتایج نشان داد که بالاترین سطح شاخص‌های تغذیه‌ای مانند کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD) (۱۵/۷۶۸) (F= ۱۶/۰۶، P= ۰/۰۰۱، dF= ۳)، کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI) (۹/۶۴۳) (F= ۱۰/۹۸، P= ۰/۰۰۳، dF= ۳)، نرخ رشد نسبی (RGR) (۰/۰۱۹) (F= ۱۰/۳۳، P= ۰/۰۰۴، dF= ۳) و شاخص مصرف (CI) (۰/۱۹۵) (F= ۱۲/۵۰، P= ۰/۰۰۲، dF= ۳) در لاروهای تغذیه شده روی رقم کاینز بیشتر از مابقی بود (جدول ۲).

جدول ۲- شاخص‌های تغذیه‌ای لارو ابریشم *Bombyx mori* هیبرید ۱۰۳*۱۰۴، تغذیه شده با رقم‌های مختلف توت

شاخص‌های تغذیه‌ای / رقم‌ها	ایچی‌نویسه	کن‌موچی	کاینز	محلی
کارایی تبدیل غذای هضم شده به بیوماس (ECD)	۸/۴۶۸±۰/۶۵b	۱۱/۱۲۱±۰/۷۱۱b	۱۵/۷۶۸±۰/۶۷۶ a	۱۵/۰۳۴±۱/۲۴۰a
کارایی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس(ECI)	۵/۵۲۵±۰/۴۵b	۷/۴۶۰ ±۰/۴۸ab	a۰/۴۴±۶۴۳/۹	۸/۴۵۰±۰/۶۹a
درصد قابلیت هضم نسبی(AD)	۶۵/۲۱۶±۰/۷۱۷a	۶۷/۹۲ ±۰/ ۷۴۰a	۶۱/۱۵۵±۰/ ۵۸۴b	۵۶/۲۲۴ ±۰/۴۸۹c
نرخ رشد نسبی(RGR)	۰/۰۰۸±۰/۰۰۱b	۰/۰۱۴ ±۰/۰۰۱ab	۰/۰۱۹±۰/۰۰۲a	۰/۰۱۱ ±۰/۰۰۲b
شاخص مصرف(CI)	۰/۱۴۶ ±۰/۰۰۵b	۰/۱۹±۰/ ۰۰۵a	۰/۱۹۵ ±۰/۰۰۸a	۰/۱۳۴ ±۰/۰۱۴b

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن آنها در سطح (P ≤ ۰/۰۵) براساس آزمون مقایسه‌های چندگانه Tukey

بررسی بیوشیمیایی همولنف لاروها: نتایج نشان می‌دهد که محتوی پروتئین در لاروهای تغذیه شده روی رقم کاینز به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر گروه‌ها بود (۶۱/۶۹ =F، ۰/۰۰۱ =P، ۳ =dF). لاروهای تغذیه شده بر روی کاینز بالاترین مقدار گلوکز را در مقایسه با سایر ارقام نشان می‌دهند (۵۶/۶۱ =F، ۰/۰۰۱ =P، ۳ =dF). تفاوت معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید در میان تیمارها وجود داشت و رقم محلی بالاترین مقدار را از خود نشان داد (۲۲/۲۵ =F، ۰/۰۰۱ =P، ۳ =dF) (جدول ۳).

فعالیت آنزیم لیپاز در لاروهای تغذیه شده روی کاینز (۵/۸۴۶) و کن‌موچی (۵/۷۱۱) به ترتیب در مقایسه با سایر رقم‌ها بیشتر بودند (۹/۸۸ =F، ۰/۰۰۵ =P، ۳ =dF). فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیدار در لاروهای تغذیه شده روی کاینز (۷/۹۸۹) و کن‌موچی (۷/۵۵۲) بالاتر بود (۳۴/۶۱ =F، ۰/۰۰۱ =P، ۳ =dF) فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز (۷۸/۰۳ =F، ۰/۰۰۱ =P، ۳ =dF) و پروتئازهای اختصاصی شامل تریپسین، کیموتریپسین، الاستاز و آمینوپپتیداز در لاروهای تغذیه شده روی کاینز در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. اگرچه فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (۰/۱۵۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و آلانین آمینو ترانسفراز ((ALT) (۰/۱۱۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در لاروهای تغذیه شده روی رقم محلی بیشتر بود، همچنین آنزیم آلکالین فسفاتاز (۰/۱۰۹) در لاروهای تغذیه شده روی ایچی نویسه بالاترین مقدار را نشان دادند (۱۵/۰۰ =F، ۰/۰۰۰۱ =P، ۳ =dF). بالاترین مقدار آنزیم پراکسیداز در لاروهای تغذیه شده روی رقم کن‌موچی در مقایسه با سایر رقم‌ها مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳- میزان ذخایر انرژی لارو ابریشم *Bombyx mori* هیبرید ۱۰۳*۱۰۴، تغذیه شده با رقم‌های مختلف توت

شاخص‌های بیوشیمیایی (mg/dl) / رقم‌ها	ایچی‌نویسه	کن‌موچی	کاینز	محلی
پروتئین همولنف	۱/۲۰۶±۰/۱۸۷b	۱/۵۰۸±۰/۰۹۶b	۳/۶۶۸±۰/۱۵۴a	۱/۱۷۵±۰/۱۵۶b
گلوکز همولنف	۱/۱۲۲±۰/۰۲۷b	۱/۱۲۳±۰/۰۴۳b	۳/۴۶۹±۰/۳۱۰a	۱/۰۳۴±۰/۰۳۳b
تری‌گلیسرید همولنف	۰/۰۲۰±۰/۰۰۱ab	۰/۰۱۶±۰/۰۰۱c	۰/۰۱۷±۰/۰۰۱bc	۰/۰۲۳±۰/۰۰۱a

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن آنها در سطح (P ≤ ۰/۰۵) براساس آزمون مقایسه‌های چندگانه Tukey

جدول ۴- فعالیت آنزیم‌های خاص مختلف لارو ابریشم *Bombyx mori* هیبرید ۱۰۳*۱۰۴، تغذیه شده با رقم‌های مختلف توت

آنزیم‌ها (U/mg protein) / رقم‌ها	ایچی‌نویسه	کن‌موچی	کاینز	محلی
لیپاز	۴/۶۱۲±۰/۳۰۷b	۵/۷۱۱±۰/۰۳۳a	۵/۸۴۶±۰/۱۳۴a	۵/۳۸۳±۰/۰۹۹ab
آلفا-گلوکوزیداز	۶/۵۴۸±۰/۳۳۹b	۷/۵۵۲±۰/۰۹۸a	۷/۹۸۹±۰/۱۱۳a	۵/۲۵۵±۰/۱۸۱C
بتا-گلوکوزیداز	۷/۹۹۳±۰/۱۹۶a	۵/۴۸۱±۰/۲۶۷b	۴/۳۴۴±۰/۲۲۶b	۶/۰۳±۰/۷۶۶b
آلفا-امیلاز	۴/۴۰۶±۰/۱۲۷c	۵/۰۴۲±۰/۰۶۳b	۶/۵۳۵±۰/۱۳۹a	۵/۰۵۵±۰/۰۴۷b
تریپسین	۲۷/۷۱۳±۰/۰۶۴b	۲۷/۶۵±۰/۷۱۰b	۴۱/۷۸۲±۰/۲۶۲a	۲۲/۵۹۱±۰/۸۱۶c
کیموتریپسین	۹/۴۶۹±۰/۵۹۳b	۸/۳۸۱±۰/۰۵۵bc	۱۳/۰۳۵±۰/۱۶۲a	۷/۶۹۶±۰/۱۹۸c
الاستاز	۲/۸۷۴±۰/۰۹۸b	۵/۲۳۲±۰/۳۳۴a	۵/۸۳۲±۰/۳۷۶a	۴/۹۵۰±۰/۰۹۴a
آمینوپپتیداز	۶/۵۵۶±۰/۳۵۱b	۶/۲۶۲±۰/۴۴۵b	۹/۸۵۴±۰/۸۱۸a	۴/۴۴۶±۰/۳۷۳b
آسپارتات آمینوترانسفراز	۰/۱۱۹ ±۰/۰۰۳b	۰/۱۱۰ ±۰/۰۰۴b	۰/۱۰۹ ±۰/۰۰۶b	۰/۱۵۶ ±۰/۰۰۲a
آلانین آمینوترانسفراز	۰/۰۷۲ ±۰/۰۰۳b	۰/۱۱۳ ±۰/۰۰۵a	۰/۰۴۰ ±۰/۰۰۸c	۰/۱۱۷ ±۰/۰۰۴a
آلکالین فسفاتاز	۰/۱۰۹±۰/۰۰۵a	۰/۰۷۸±۰/۰۰۶b	۰/۰۶۳±۰/۰۰۴b	۰/۰۷۶±۰/۰۰۵b
گلوتاتیون-اس-ترانسفراز	۱/۲۸±۰/۱۹a	۱/۱۴۳±۰/۲۸۸a	۰/۹۶۸±۰/۰۰۶۴a	۰/۹۴±۰/۰۳a
پراکسیداز	۰/۱۵۳±۰/۰۲۶b	۰/۱۸۲±۰/۰۳۶a	۰/۱۳۲±۰/۰۴۱c	۰/۰۳۵±۰/۰۴d

* در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن آنها در سطح ($P \leq ۰/۰۵$) براساس آزمون مقایسه‌های چندگانه Tukey

بحث و نتیجه‌گیری

گیاهان حاوی طیف وسیعی از عناصر غذایی برای رشد و نمو گیاهخواران بوده، اما مقدار این عناصر در بین گونه و رقم‌های مختلف گیاهی متفاوت هستند (۴۰). بنابراین این تغییرات تأثیر متفاوتی روی رشد، نمو و توانایی هضم این موجودات خواهد داشت (۲۱).

دراین تحقیق کیفیت و کمیت چهار رقم برگ توت و تأثیر آنها در خصوصیات فیزیولوژیکی و بیولوژیکی کرم ابریشم مورد مطالعه قرارگرفت. محققین براین باورند که کاهش خصوصیات اقتصادی کرم ابریشم از پایین بودن ارزش تغذیه‌ای برگ‌های توت مشتق می‌شود (۲). تغذیه با برگ-های مناسب توت موجب افزایش وزن و حجم غدد ابریشمی شد و در نتیجه موجب بالا رفتن تولید و کاهش ابتلا به بیماری‌ها می‌شود (۱۲). کیفیت تغذیه‌ای برگ‌های توت روی افزایش وزن این حشرات تأثیر گذاشت و این تأثیر در شاخص‌های اقتصادی نمایان می‌شود (۷ و ۱۸).

نیتروژن، فسفر و پتاسیم از عناصر تغذیه‌ای مورد توجه در برگ‌های توت بوده و کمبود عنصر فسفر تأثیر نامناسبی در جذب سایر عناصر غذایی برگ توت می‌گذارد که موجب بروز تأثیر نامناسبی روی کرم ابریشم می‌شود (۳۶). نیتروژن هم که یکی از عناصر مهم در تغذیه کرم ابریشم می‌باشد، باعث تولید ابریشم با کیفیت بیشتر می‌شود و مقدار این عنصر رابطه مستقیم با افزایش و کاهش کیفیت و کمیت پیله تولیدی می‌شود (۵۵). رطوبت برگ‌های توت یک عامل بسیار مؤثر در نتایج اقتصادی کرم ابریشم می‌باشد (۱۷). به نظر می‌رسد که پروتئین عنصر بسیار مهمی در رشد و نمو و تولید کرم ابریشم می‌باشد (۱۵ و ۲۵) و این نظرها توسط محققین بسیاری نیز تأیید شده است (۴، ۲۴ و ۴۹). برگ‌های توت منبع بسیار مهمی از پروتئین و اسیدهای آمینه هستند. بنابراین رابطه مستقیم بین پروتئین برگ و وزن پیله تولیدی دارد (۲۱). گزارش شده است که میزان ازت و رطوبت برگ توت، رابطه مستقیم با

کمیت و کیفیت پیله استحصالی دارد (۱۴) دراین مطالعه رقم کاینز بالاترین مقدار ازت و رطوبت در مقایسه با سایر رقم‌ها بوده و ممکن است این شاخص باعث افزایش خصوصیات اقتصادی کرم ابریشم مانند وزن‌تر لارو، وزن خشک لارو، تعداد کل پیله تولیدی، تعداد پیله خوب، وزن انفرادی و کلی پیله تولیدی و همچنین محصول پیله تولیدی شود (۴۱).

کیفیت غذا روی نرخ رشد، نرخ مصرف و زمان رشد لاروی حشرات گیاهخوار مؤثر است (۲۲). کارایی مصرف مناسب غذایی کرم ابریشم به‌عنوان ابزاری برای ارزیابی کیفیت ارقام مختلف برگ توت، بسیار حائز اهمیت است (۳۹). مطالعه کارایی تغذیه‌ای همه نژادهای کرم ابریشم دو خواب نشان‌دهنده تفاوت نیازهای تغذیه‌ای در زمان پرورش این حشره روی رقم‌های مختلف برگ توت بود (۲۰). نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که شاخص‌هایECI، ECD، RGR و CI به‌صورت معنی‌داری در لاروهای تغذیه شده روی رقم کاینز بالاتر از سایر تیمارها بود. ECD و ECI شاخص‌هایی هستند که ارتباط بین کیفیت تغذیه و کارایی تبدیل عناصر غذایی به ابریشم را نشان می‌دهند (۲۲). در مطالعه حاضر، شاخص‌های ECD و ECI در لاروهای تغذیه شده روی رقم کاینز بیشتر بودند و این نشان‌دهنده کیفیت بالای عناصر غذایی و کارایی بالای تبدیل آن به ابریشم در مقایسه با سایر برگ‌ها می‌باشد. یکی از مهمترین عوامل تولید ابریشم و کیفیت ابریشم تغذیه از برگ توت مناسب می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که تغذیه از برگ‌های توت با کیفیت پایین موجب کاهش رشد لاروها و افزایش طول دوره لاروی، کاهش باروری و کاهش کمیت و کیفیت ابریشم تولیدی (۳۷) و کاهش تبدیل متابولیک مواد غذایی به ابریشم می‌شود (۲۲، ۳۲ و ۳۳). رحمتلا و همکاران (۳۸) ذکر کردند که ارتباط بین رقم‌های توت و شاخص‌های تغذیه‌ای مانند ECD و ECI وجود دارد. نتایج حاضر نشان داد که رقم کاینز دارای بالاترین سطح در محتویات تغذیه‌ای و پروتئین بود که این موضوع باتوجه به پروتئین همولنف لاروهای تغذیه شده روی این رقم که در سطح بالاتری نسبت به سایر تیمارها بود، ثابت می‌شود. تأثیر کیفیت برگ در کارایی تغذیه‌ای و محتویات بیوشیمیایی لاروهای *T. viridana* هم گزارش شده است (۵۲) همچنین نتایج کاهش کیفیت برگ به دلیل ایجاد تنش ناشی از ترکیبات سمی منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های تغذیه می‌شود، باوجود افزایش در میزان هضمیت نسبی (۲۷).

مطالعات بسیاری نشان می‌دهد که تغذیه سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌شود (۸). در تحقیق حاضر نیز فعالیت آنزیم‌های مختلفی مانند لیپاز، آلفا-گلوکوزیداز، بتا-گلوکوزیداز، آلفا-آمیلاز، تریپسین، کیموتریپسین، آمینوپپتیداز، آسپارتات امینوترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز و الاستاز و گلوتاتیون اس-ترانسفرازاندازه‌گیری شد که آنزیم‌های لیپاز (۵/۸۴۶±۰/۱۳۴)، آلفا-گلوکوزیداز (۷/۹۸۹±۰/۱۱۳)، آلفا-آمیلاز (۶/۵۳۵±۰/۱۳۹)، تریپسین (۴۱/۷۸۲±۰/۲۶۲)، کیموتریپسین (۱۳/۰۳۵±۰/۱۶۲)، آمینوپپتیداز (۹/۸۵۴±۰/۸۱۸) و الاستاز (۵/۸۳۲±۰/۳۷۶) در لاروهای تغذیه شده بروی رقم کاینز بیشتر از سایر رقم‌ها بود. این نتایج با بسیاری از تحقیقات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد (۴، ۲۱، ۴۵ و ۴۹).

سلول‌های بدن جانوران با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها خود را در مقابل صدمات ناشی از اکسیژن‌های آزاد در امان نگه می‌دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها شوند. سامانه‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی حشرات شامل بعضی آنزیم‌ها مانند کاتالاز، گلوتاتیون اس-ترانسفراز، پراکسیداز و غیره می‌باشند. این آنزیم‌ها به‌طور معمول زمانی تولید می‌شوند که حشرات در شرایط تنش قرارگرفته و یا در معرض مواد شیمیایی و موارد بیماری‌زا باشند که این شرایط باعث تولید رادیکال-های آزاد اکسیژن (ROSs) شده که برای حشرات کشنده می‌باشند. به همین دلیل از این آنزیم‌ها می‌توان به‌عنوان

نشانگر زیستی استفاده کرد. برای مثال آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز پراکسید هیدروژن را از سلول‌ها حذف و به همین دلیل به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شود (۴۷). در این مطالعه کاهش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز (۰/۹۶۸±۰/۰۰۶۴) و پراکسیداز (۰/۱۳۲±۰/۰۴۱) در لاروهای تغذیه‌کرده از رقم کاینز نشان‌دهنده این نکته است که این لاروها در مقایسه با سایر تیمارها، تحت تنش کمتری قرارگرفته‌اند و در نتیجه رقم کاینز، مطلوبیت غذایی بالاتری برای کرم ابریشم داشته و این حشره سازگاری بیشتری با این رقم در مقایسه با سایر ارقام توت دارد. به‌طورکلی نتایج تحقیق حاضر مؤید و تائید کننده تحقیقات سایر محققین در تأثیر کیفیت تغذیه در پرورش کرم ابریشم است. تبدیل مواد شیمیایی موجود در برگ‌ها به مواد مورد نیاز و مواد تولیدی توسط کرم ابریشم در این صنعت بسیار حائز اهمیت است و در نتیجه رقم کاینز حائز بیشترین شاخص‌های مورد نظر برای تولید محصول پیله و ابریشم است.

سپاسگزاری

نویسندگان و محققین این مطالعه از مرکز تحقیقات ابریشم کشور، پسیخان، رشت و همچنین گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه گیلان به ترتیب به دلیل فراهم آوری مراحل پرورش کرم ابریشم و تسهیلات آزمایشگاهی کمال تشکر و قدردانی را دارند. همچنین نقش به سزای مهندس یوسف خیرخواه رحیم‌آباد مسئول بخش تحقیقات کرم ابریشم در مرکز تحقیقات ابریشم کشور و تلاش‌های ایشان در انجام این تحقیق بسیار ارزنده بوده و کمال تشکر و قدردانی از ایشان انجام می‌شود.

منابع

1- Addy, S. K., and Goodman, R. N., 1972. Polyphenol oxidase and peroxidase activity in apple leaves inocultaed with a virulent or an avirulent starin of *Erwinia amylovora*, Indian phytopathology, 25, PP: 575-579.

2- Ashiru, M. O., 2002. The effect of mulberry varieties on the performance of Chul Thai 5 silkworm race, Discovery and Innovation, 14, PP: 77-83.

3- Bernfeld, P., 1955. α-amylase, Methods Enzymology, 1, PP: 149-151.

4- Bohidar, K., Sahoo, B. S., and Singh, D. K., 2007. Effect of different varieties of mulberry leaves on economic parameters of the silkworm *Bombyx mori* L., under Orissa climate, Bulletin on Indian Academy of Sericulture, 11, PP: 60-64.

5- Bongale, U. D., Mallikarjunappa, R. S., Narahari Rao, B. V., Anantharaman, M. N., and Dandin, S. B., 1997. Leaf nutritive quality associated with maturity levels in fourteen important varieties of mulberry (*Morus* spp.). Sericologia (France), 37, PP: 71-81.

6- Bose, P. C., Majumder, S. K., and Sengupta, K., 1991. A comparative biochemical study of six mulberry (*Morus alba* L.) varieties. Indian Journal of Sericulture, 30, PP: 83-87.

7- Das, C., Sahu, P. K., Sengupta, T., Misra, A. K., Saratchandra, B., and Sen, S. K., 2001. Genetic variability in some physiological traits in mulberry. Indian Journal of Plant Physiology, 6, PP: 162-165.

8- Duffey, S. S., Hoover, K., Bonning, B., and Hammock, B. D., 1995. The impact of host plant on the efficacy of baculoviruses. Reviews in Pesticide Toxicology (USA), 3, PP: 137-275.

9- Etebari, K., Ebadi, R., and Matindoost, L., 2004. Effect of feeding mulberry's enriched leaves with ascorbic acid on some biological, biochemical and economical characteristics of silkworm *Bombyx mori* L. International Journal of Industrial Entomology, 8, PP: 81-87.

10- Foo, C. W. P., and Kaplan, D. L., 2002. Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. Advanced Drug Delivery Reviews, 54, PP: 1131-1143.

11- Fossati, P., and Prencipe, L., 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clinical Chemistry, 28, PP: 2077-2080.

12- Giridhar, K., and Reddy, N. S., 1991. Effective rate of rearing in bivoltive silkworm (*Bombyx mori* L.) breeds on different mulberry varieties. Indian Jouranal of Sericulture, 30, PP: 88-90.

13- Habig, W. H., Pabst, M. J., and Jakoby, W. B., 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of biological Chemistry, 249, PP: 7130-7139.

14- Hosseini Omam, S. E., Mavvajpour, M., and Seidavi, A., 2014. Effect of concentration, physical and chemical forms of nitrogen fertilizers on qualitative characteristics of mulberry (*Morus alba* L.) leaf and silkworm performance, Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 27, PP: 474-486.

15- Jin, H. J., Park, J., Cebe, P., and Kaplan, D. L., 2002. Engineered films of *Bombyx mori* silk with poly (ethylene oxide). MRS Online Proceedings Library Archive, PP.735.

16- Kataoka, K., and Imai, T., 1986. Cocoon quality and physical properties of the cocoon filaments produced by silkworms reared on mulberry leaves and on an artificial diet. The Journal of Sericultural Science of Japan, 55, PP: 112-117.

17- Kochi, S. C., and Kaliwal, B. B., 2005. Synergetic Effect of Minerals Mixture of Potassium Bromide and Nickel Sulphate on the Economic Traits of CSR2, CSR4 and CSR2×CSR4 Crossbreed Races of the Silkworm, *Bombyx mori* L. International Journal of Industrial Entomology, 10, PP: 107-117.

18- Krishnaswami, S., 1978. New technology of silkworm rearing. II. Indian Silk, PP: 4-5.

19- Kumar, V., Kumar, V., Rajaadurai, S., Babu, A. M., Katiyar, R. L., Kariappa, B. K., Thiagarajan, V., and Jayawal, K. P., 2002. The chronic architecture and shell structure of *Diaphania pulverulentalis* (Hampson) (Lepidoptera: Pyralidae). Russian Entomology Journal, 11, PP: 307-310.

20- Lalfelpuii, R., 2016. Biochemical and molecular analysis of host plant interaction in *Bombyx mori* L. strains (Doctoral dissertation, Mizoram University).

21- Lalfelpuii, R., Choudhury, B. N., Gurusubramanian, G., and Kumar, N. S., 2014. Effect of different mulberry plant varieties on growth and economic parameters of the silkworm *Bombyx mori* in Mizoram. Science Vision, 14, PP: 34-38.

22- Levesque, K. R., Fortin, M., and Mauffette, Y., 2002. Temperature and food quality effects on growth, consumption and post-ingestive utilization ef. ciencies of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae), Bulletin of Entomological Research, 92, PP: 127-136.

23- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193, PP: 265-275.

24- Machii, H., and Katagiri, K., 1991. Varietal differences in nutritive values of mulberry leaves for rearing silkworms. Japan Agricultural Research Quarterly, 25, PP: 202–208.

25- Min, B. M., Jeong, L., Nam, Y. S., Kim, J. M., Kim, J. Y., and Park, W. H., 2004. Formation of silk fibroin matrices with different texture and its cellular response to normal human keratinocytes. International Journal of Biological Macromolecules, 34, PP: 223-230.

26- Murugan, K., Jeyabalan, D., Senthil Kumar, N., Senthil-Nathan, S., and Sivaprakasam, N., 1998. Growth promoting effects of plant products on silkworm: a biotechnological approach. Journal of Scientific and Industrial Research, 57, PP: 740-745.

27- Nasr Isfahani, M., Jalali Sendi, J., Moharramipour, S., and Zibaee, A., 2014. Thymus and Rosemary essential oil on toxicity and physiological,Parameters of diamondback moth *Plutella xylustella* L. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 27, PP: 553 -567.

28- Neog, K., Unni, B., and Ahmed, G., 2011. Studies on the influence of host plants and effect of chemical stimulants on the feeding behavior in the muga silkworm, *Antheraea assamensis*, Journal of Insect Science, 11 p.

29- Nirwani, R. B., and Kaliwal, B. B., 1996. Effect of folic acid on economic traits and the change of some metabolic substances of the silkworm, *Bombyx mori* L., Journal of Sericultural and Entomological Science, 38, PP: 118-123.

30- Otto, A., Oliver, H., and Jane, M., 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. Journal of Biological Chemistry, 164, PP: 321-329.

31- Oppert, B., Kramer, K. J., Beeman, R. W., Johnson, D., and McGaughey, W. H., 1997. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus*

thuringiensis toxins, Journal of Biological Chemistry, 272, PP: 23473-23476.

32- Parra, J. R., and Kogan, M., 1981. Comparative analysis of methods for measurements of food intake and utilization using the soybean looper, *Pseudoplusia includens* and artificial media. Entomologia Experimentalis et Applicata, 30, PP: 45-57.

33- Paul, D. C., Rao, G. S., and Deb, D. C., 1992. Impact of dietary moisture on nutritional indices and growth of *Bombyx mori* and concommitant larval duration. Journal of insect physiology, 38, PP: 229-235.

34- Pillai, S. V., and Jolly, M. S., 1985. An evaluation on the quality of mulberry varieties raised under hill conditions and the crop results of *Bombyx mori* L. Indian Journal of Sericulture, 24, PP: 48-52.

35- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPheron, B. A., Thompson, J. N., and Weis, A. E., 1980. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. Annual Review of Ecology and Systematics, 11, PP: 41-65.

36- Radha, N. V., Nagarajan, P., and Jayaraj, S., 1988. Mineral deficiency in mulberry plants, *Morus alba* L., and its effect on economic characters of silkworm *Bombyx mori* L. Madras Agriculture Journal, 75, PP: 384-390.

37- Rahimi, V., Hajizadeh, J., Zibaee, A., and Jalali Sendi, J., 2018. Effect of *Polygonum persicaria* (Polygonales: Polygonaceae) Extracted Agglutinin on Life Table and Antioxidant Responses in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae, Journal of Economic Entomology, 111(2), PP: 662-671.

38- Rahmatholla, V. K., Rufaie, S. H., Himantharaj, M. T., Vindya, G. S., and Rajan, R. K., 2005. Food ingestion, assimilation and conversion efficiency of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. International Journal of Industrial Entomology, 11, PP: 1-12.

39- Ramesha, C., Anuradha, C. M., Lakshmi, H., Sugnana Kumari, S., Seshagiri, S. V., Goel, A. K., and Suresh Kumar, C., 2010. Nutrigenetic traits analysis for identification of nutritionally efficient silkworm germplasm breeds. Biotechnology, 9, PP: 131-140.

40- Ruan, Y., and Wu, K., 2001. Performances of the cotton boll worm, *Helicoverpa armigera* on different food plants. Acta entomologica Sinica, 44, PP: 205-212.

41- Sadeghi Khamenei-Tabrizi, A. S., Sendi, J. J., Imaani, S., and Shojaee, M., 2020. Can feeding of silkworm on different mulberry variety affect its performance? Journal of Economic Entomology 113(1), PP: 281-287.

42- Siegert, K. J., 1987. Carbohydrate metabolism in *Manduca sexta* during late larval development. Journal of Insect Physiology, 33(6), PP: 421-427.

43- Silva, C. P., and Terra, W. R., 1995. An α-glucosidase from perimicrovillar membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae) midgut cells. Purification and properties. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 25, PP: 487-494.

44- Slansky, Jr. F., 1985. Food consumption and utilization. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, 4, PP: 87-163.

45- Sujathamma, P., Dandin, S. B., and Savithri, G., 2001. Quality evaluation of mulberry (*Morus* spp.) genotypes through bioassay under Royalaseema conditions of Andhra Pradesh. Indian Journal of Sericulture, 40, PP: 27-34.

46- Taddei, P., Arai, T., Boschi, A., Monti, P., Tsukada, M., and Freddi, G., 2006. *In vitro* study of the proteolytic degradation of *Antheraea pernyi* silk fibroin. Biomacromolecules, 7, PP: 259-267.

47- Talebi, K., Hosseininaveh, V., and Ghadamyari, M., 2011. Ecological impacts of pesticides in agricultural ecosystem. In Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits. Intech Open, PP: 8-168.

48- Terra, W. R., and Ferreira, C., 1983. Further evidence that enzymes involved in the final stages of digestion by *Rhynchosciara* do not enter the endoperitrophic space. Insect Biochemistry, 13, PP: 143-150.

49- Thangamani, R., and Vivekanandan, M., 1984. Physiological studies and leaf nutrient analysis in the evaluation of best mulberry variety [Tamil Nadu]. Sericologia, 24, PP: 317-324

50- Thomas, L., 1998. Clinical laboratory diagnostics, 1st ed. Frankfurt, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft, PP: 667-678.

51- Tsujita, T., Ninomiya, H., and Okuda, H., 1989. P-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose

tissue. Journal of Lipid Research, 30, PP: 997-1004.

52- Venugopala, P. S., and Jolly, M. S., 1985. An evaluation on the quantity of mulberry varieties raised under hill conditions and the crop results of *Bombyx mori* (L.), Indian Journal of Sericulture, 14, PP: 48-52.

53- Waldbauer, G. P., 1964. The consumption, digestion and utilization of solanaceous and non-solanaceous plants by larvae of the tobacco hornworm, *Protoparce sexta* (Johan.) (Lepidoptera: Sphingidae). Entomologia Experimentalis et Applicata, 7, PP: 253-269.

54- Yazdanfar, H., Daryaei, M. G., Sendi, J. J., Ghobari, H., and Valizadeh, B., 2015. Effects of various host plants on nutritional indices and some biochemical compounds in green oak leaf roller, *Tortrix viridana* L (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Entomological and Acarological Research, 47, PP: 98-102.

55- Yin, H., Tong, W., Ye, J., Sun, B., Shi, X., and Liu, G., 2010. Effects of nitrogen amount and nitrogen form on 1-deoxynojimycin content in mulberry leaf. Agricultural Science and Technology-Hunan, 11, PP: 183-185.

The effect of four varieties of mulberry leaves on the performance of silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)

Sadeghi Khamenei-Tabrizi A.[1], Jalali Sendi J.[2,3], Imani S.[1] and Ahadiyat A.[1]

[1] **Dept. of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.**

[2] **Dept. of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran.**

[3] **Dept. of Silk Research, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran.**

Abstract

This study aimed to assess the effect of different mulberry varieties namely Ichinose, Kenmochi, Kines and Guilani local on economical nutritional and biochemical characteristics, of silkworm hybrid 103*104.The current research tries to select and introduce a suitable variety for 103*104 hybrid. The hybrid 103*104 egg batches were procured from Silk Research Center (Pasikhan- Rasht) and were bred on different mulberry leaves on the basis of classical culture method in controlled condition (25± 1 °C, 70 % RH and 12:12 L;D). Our results showed that the Kines variety possessing higher amount of protein, when fed by silkworm exhibited better economical parameters comparatively ($P<0.05$). Single and total weight of cocoons and cocoon yield/10.000 larvae were significantly increased when larvae fed on Kines. Similarly, highest level of nutritional indices such as efficiency of conversion of ingested food (ECI), efficiency of conversion of digested food (ECD), relative growth rate (RGR) and consumption index (CI) were observed in larvae fed on Kines variety. Activity of digestive and antioxidant enzymes of the larvae were differently affected by varieties fed. The results of present study clearly indicated that the Kines variety of mulberry could be an appropriate host plant for rearing of silkworms based on studied parameters.

Key words: *Bombyx mori*, Mulberry varieties, Economical traits, Nutritional indices