

مقایسه میزان مقاومت به بیماری گراسری و عملکرد برخی از ترکیبات

ژنتیکی کرم ابریشم در ایران

علیرضا صیداوی^{۱*}، سیدضیاءالدین میرحسینی^۲، مانی غنی پور^۳ و علیرضا بیژن نیا^۴

۱- گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

۲- گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

۳- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور، رشت

۴- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: alirezaseidavi@yahoo.com

چکیده

به منظور تعیین پایه مادری مناسب از نظر عملکرد و مقاومت به بیماری گراسری، دو لاین خالص جدید کرم ابریشم با منشأ ژاپنی 103.M.1.1 و M.1.1.103 به عنوان پایه مادری با سه لاین تجاری 31، 103 و 107 و دو لاین با منشأ چینی Koming و 110.104 نیز به عنوان پایه مادری با سه لاین تجاری 32، 104 و 110 تلاقی داده شدند. هر یک از دوازده ترکیب ژنتیکی حاصل در بیست تکرار هر کدام حاوی ۲۵۰ لارو در محیط آلوده به بیماری گراسری پرورش یافتند. آمیخته‌های حاصل از لاین‌های 103.M.1.1 و Koming از نظر صفات وزن پيله، تعداد لارو زنده و درصد ماندگاری سفیره به طور معنی داری در سطح بالاتری قرار داشتند ($P < 0.05$)؛ به طوری که بالاترین میانگین صفت وزن پيله در پایه‌های چینی و ژاپنی متعلق به پایه‌های ژاپنی 103.M.1.1 (۱/۳۳۵ گرم) و چینی Koming (۱/۳۶۷ گرم) بود ($P < 0.05$). بیشترین میانگین صفت تعداد لارو در پایه‌های چینی و ژاپنی هم به پایه‌های ژاپنی 103.M.1.1 (۲۲۱/۶ لارو) و چینی Koming (۲۰۵/۷ لارو) تعلق داشت ($P < 0.05$). در مقایسه بین دوازده هیبرید با هم مشخص شد که هیبرید چینی Koming×104، به طور معنی داری بالاترین وزن پيله را در بین تمام دوازده هیبرید مورد مطالعه دارا است ($P < 0.05$). همچنین همین هیبرید Koming×104 به همراه هیبرید چینی Koming×32 و چهار هیبریدهای ژاپنی 103.M.1.1×31، 103.M.1.1×103، 103.M.1.1×107 و 103.M.1.1×107 بیشترین تعداد لارو زنده را داشتند ($P < 0.05$). بالاخره این که هیبریدهای Koming×32، Koming×104 و 103.M.1.1×107 دارای بالاترین درصد ماندگاری سفیره بودند ($P < 0.05$). با توجه به نتایج به دست آمده پیشنهاد می‌گردد لاین پایه مادری Koming برای آمیزش با لاین پایه پدری 104 و لاین پایه مادری 103.M.1.1 برای آمیزش با لاین پایه پدری 107 به منظور تولید هیبریدهای مقاوم به بیماری گراسری و دارای خصوصیات عملکردی مطلوب مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی

کرم ابریشم،
پيله،
مقاومت،
عملکرد،
بیماری گراسری

واریتها نشان می‌دهند. سن و همکاران (۱۹۹۷) هم معتقد بودند در میان خزانه‌های ژنی کرم ابریشم، در پاسخ به ویروس عامل بیماری گراسری تنوع ژنتیکی وجود دارد. واتاناب (۱۹۸۶) نشان داد که مقاومت به بیماری در کرم ابریشم، تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است و می‌توان با کارهای اصلاح‌نژادی، واریته‌های پرتولید و مقاوم بدست آورد. مشخصات و ویژگی‌های عامل بیماری گراسری یعنی ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای نیز برای کاربری در فعالیت‌های اصلاح‌نژادی تشریح شده است (تواری و همکاران، ۱۹۹۶).

پژوهشگران مختلفی نظیر هاکيو و همکاران (۱۹۹۷)، سون و همکاران (۱۹۹۰) و تیاگاراگان و همکاران (۱۹۹۴) با انجام فعالیت‌های به‌نژادی، جداسازی واریته‌های جدید و پرتولید مقاوم به بیماری را گزارش کرده‌اند. زو و ویر (۱۹۹۶) با استفاده از شیوه‌های^۱ MINQUE و^۲ REML، روش دیگری به‌نام AUP^۳ را برای پیش‌بینی آثار ژنتیکی افزایشی توسعه داده و آنرا در فرآیند جداسازی لاین‌ها به‌کار بردند. اختلاف عملکرد آمیخته‌ها در شرایط طبیعی و هنگام بروز بیماری گراسری توسط محققان دیگری نیز گزارش شده است (سینق و همکاران، ۱۹۹۰). هدف از این پژوهش تعیین پایه‌های مادری مناسب و جدید از نظر عملکرد و میزان مقاومت به بیماری گراسری با استفاده از تلاقی لاین‌های تجاری برای برنامه‌های آتی اصلاح نژادی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حشره و روش تلاقی

پایه‌های مادری شامل دو لاین خالص ژاپنی 103.M.1.1 و 103.M.1.1.103 و دو لاین خالص چینی Koming و 110.104 بود که در طی سال‌های گذشته بر اساس نتایج برنامه‌های اصلاح نژادی در بخش اصلاح نژاد مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور جداسازی و معرفی شده بودند. با توجه به اطلاعات و رکوردهای موجود در بانک ژن کرم ابریشم مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور، هر یک از لاین‌های ژاپنی با سه لاین 31، 103 و 107 به‌عنوان لاین‌های

فرش‌ابریشمی با جایگاه سترگ و پیشینه تابناک خود می‌تواند نقش به‌سزایی در صادرات غیرنفتی کشور داشته باشد. کاهش هزینه‌های تولید ابریشم و افزایش کیفیت آن، تأثیر به‌سزایی در افزایش بهره‌وری فرآیند تولید فرش دستباف ابریشمی خواهد داشت.

نوغانداران تولیدکننده ابریشم در ایران از واریته‌های تخم‌نوغانی استفاده می‌کنند که مراکز دولتی به آنها عرضه می‌نمایند. هرگونه بهبود توان و پتانسیل ژنتیکی واریته‌های تخم‌نوغان داخلی و ارائه واریته‌های مقاوم به بیماری‌های شایع، موجب افزایش کارایی تولید ابریشم می‌شود (صیداوی و همکاران، ۱۳۸۲). از این‌رو طرح‌های به‌نژادی مختلفی توسط این مراکز با این هدف اجرا می‌شود و پس از دستیابی به لاین‌های خالص که از ویژگی‌های مورد نظر برخوردار باشند، اقدام به تولید و عرضه آمیخته‌های حاصل از این لاین‌ها می‌شود (میرحسینی و همکاران، ۱۳۸۶).

بیماری گراسری نیز از جمله بیماری‌های رایج و مهلک کرم ابریشم است که خسارات وسیعی به نوغانداران وارد می‌کند (صیداوی و همکاران، ۲۰۰۴a). ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای عامل این بیماری است و در دو مرحله لاروی و شفیرگی سبب ایجاد اختلالات فیزیولوژیک و در نتیجه کاهش عملکرد تولیدی و مرگ و میر حشره می‌گردد. پیش از این گزارش شده بود که بیشترین تأثیر منفی ویروس، به ترتیب روی خصوصیات تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره و کمترین تأثیر آن روی درصد قشر پيله ظاهر می‌گردد (صیداوی و همکاران، ۱۳۸۶b). بنابراین اوج بیماریزایی ویروس در مرحله شفیرگی است که موجب کاهش کیفیت پيله و ابریشم استحصالی خواهد گردید. در نتیجه انتظار می‌رود خسارت وارده در نتیجه بروز این بیماری بر کارخانجات ابریشم کشی و مراکز تولیدکننده تخم‌نوغان بیشتر از نوغانداران تولیدکننده پيله باشد (صیداوی و همکاران، ۲۰۰۴b؛ صیداوی و همکاران، ۱۳۸۶a).

لی و همکاران (۱۹۹۴) عنوان کردند که برخی واریته‌ها هنگام بروز بیماری گراسری از لحاظ مقاومت تفاوت معنی‌داری با سایر

¹ Minimum Norm Quadratic Unbiased (MINQUE)

² Restricted Maximum Likelihood (REML)

³ Adjusted Unbiased Production (AUP)

سوکرور ساتریفوژ گردید و پس از سوسپانسیون در آب مقطر، اقدام به شمارش ذرات ویروسی با استفاده از لام نئوبار (گلوبول‌شمار) گردید و با رقیق نمودن سوسپانسیون حاصله رقت مورد نظر تهیه گردید. پس از تهیه سوسپانسیون، برگ مصرفی اولین وعده تغذیه کلیه لاروهای سن چهارم در محیط آلوده به ویروس عامل گراسری، به طور یکنواخت با این سوسپانسیون اسپری شد و مورد تغذیه لاروها قرار گرفت (سینق و همکاران، ۱۹۹۰ و صیداوی و همکاران، ۱۳۸۶b؛ با اندکی تغییر در روش کار).

به منظور ایجاد شرایط آلودگی، برگ توت مصرفی اولین وعده تغذیه کلیه لاروهای سن چهارم مطابق روش چنگ و هو (۱۹۹۲) به ویروس آغشته شد. در محیط آلوده به ویروس عامل گراسری، لاروهای هر وارسته در سنین اول، دوم و سوم به صورت گروهی و سپس از ابتدای سن چهارم پس از شمارش لاروها، هر تیمار در قالب بیست تکرار مشتمل بر ۲۵۰ لارو پرورش داده شدند.

رکوردگیری و سایر شرایط آزمایش

در هر تکرار ۲۵ پیله نر و ۲۵ پیله ماده برای خصوصیات پیله مورد رکوردگیری انفرادی قرار گرفتند. شرایط تفریح، پرورش و تولید پیله در کلیه موارد به صورت استاندارد (اسکاپ، ۱۹۹۳) انجام شد.

صفات مورد بررسی

متغیرهای اندازه‌گیری شده عبارت بودند از وزن پیله، تعداد لارو زنده و درصد ماندگاری شفیره. برای تعیین تعداد لارو زنده در هر تکرار، تعداد لاروهای موجود در پایان دوره تغذیه لاروی و قبل از شروع مرحله پیله‌تنی شمارش شد. برای تعیین درصد ماندگاری شفیره هم کلیه پیله‌های هر تکرار از نظر سلامت و بیماری و تلفات شفیره داخل آن مورد بررسی و شمارش قرار گرفت. سپس درصد ماندگاری شفیره در هر تکرار از تقسیم تعداد شفیره‌های زنده موجود در کل پیله‌های آن تکرار بر تعداد کل شفیره‌های زنده و مرده موجود در پیله‌های آن تکرار محاسبه و به صورت درصد بیان شد.

پدری و هر کدام از لاین‌های چینی با سه لاین 32، 104 و 110 به عنوان لاین‌های پدری تلاقی داده شدند و دوازده ترکیب ژنتیکی حاصل شد. لاین‌های ژاپنی گروهی از لاین‌های با ویژگی‌های فنوتیپی متمایز از لاین‌های چینی هستند. در لاین‌های ژاپنی، لاروها دارای علامت سیاهرنگی در پشت سر خود بوده، پیله بزرگ، دراز و باریک داشته، تخم خاکستری رنگ دارند و نسبت به بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی نسبتاً غیرمقاوم هستند. لیکن در لاین‌های چینی، لاروها فاقد علامت سیاهرنگ در پشت سر خود بوده، پیله کوچک، پهن و مدور داشته، تخم سبز رنگ دارند و نسبت به بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی نسبتاً مقاوم‌تر از لاین‌های ژاپنی هستند. همه لاین‌های چینی و ژاپنی مورد استفاده در این تحقیق، حاصل از فعالیت‌های اصلاح نژادی انجام شده در مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور بود.

ایجاد محیط آلوده به ویروس و انتساب لاروها به تیمارها

برای آلوده‌سازی برگ توت به سوسپانسیونی به غلظت 10^7 ذره ویروسی در میلی لیتر برای مرگ و میر نیمه از لاروها (LD_{50}) نیاز بود (سینق و همکاران، ۱۹۹۰). به این منظور لاروهای کرم ابریشم مبتلا به بیماری گراسری انتخاب و همولف آنها با برش پاهای کاذب جداسازی شد. سپس قبل از خالص سازی و جداسازی ذرات ویروسی، با افزودن آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آمپی‌سیلین به محتوای همولف، آلودگی‌های ثانویه و کاذب از بین برده شد. سپس محلول حاصل در SDS^1 با غلظت ۰/۰۱ درصد سوسپانسه گردید. محلول SDS با تشکیل باندهایی با پروتئین‌ها آنها را تخریب کرده، کمپلکس‌های SDS -پلی پپتید دراز شبه میله ای تولید می‌کند تا محیط محلول حالت شفاف یافته و غشای سلولی هم آسان‌تر تخریب شود. سپس سوسپانسیون حاصله از صافی گاز استریل عبور داده شده و به مدت ده دقیقه با شدت 3000rpm سانتریفوژ گردید تا خالص‌سازی اولیه ویروس NPV^2 انجام پذیرد. سپس رسوب حاصله دوباره در محلول SDS با غلظت ۰/۰۱ درصد سوسپانسه نموده و به مدت سی دقیقه با سرعت 8000rpm با شیب غلظت ۷۰-۴۰ درصد

¹ Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)

² Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV)

مدل آماری، اجزای آن و روش تجزیه آماری

داده‌های مربوط به صفات اندازه‌گیری شده به وسیله نرم افزار آماری SAS (۱۹۸۸) و با استفاده از رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته یا GLM (مدل‌های ثابت دوطرفه آشیانه‌ای) تجزیه و تحلیل، و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد. مدل ریاضی طرح به صورت $Y = \mu + D_i + S(D)_{ij} + e_{ijk}$ بود که در آن Y رکورد یا مشاهده هر صفت، μ میانگین صفت، D_i اثر پایه مادری یا $S(D)_{ij}$ اثر پایه پدری j که در پایه مادری i آشیانه‌ای (nested) شده و e_{ijk} هم اثرات باقیمانده است.

نتایج و بحث

در بین هیبریدهای چینی، تلاقی $Koming \times 104$ بیشترین وزن پيله (۱/۳۹۷ گرم) و بالاترین تعداد لارو زنده (۲۲۶/۳) را داشت. همچنین در همین گروه، تلاقی $Koming \times 32$ بیشترین درصد ماندگاری شفیره (۹۸/۱۱) را داشت (جدول ۱). اما در بین هیبریدهای ژاپنی، تلاقی $103.M.1.1 \times 31$ و $103.M.1.1 \times 103$ مشترکاً بیشترین وزن پيله (۱/۳۴۴ گرم) را داشت. همچنین تلاقی $103.M.1.1 \times 107$ بالاترین تعداد لارو زنده (۲۲۵/۱) و بیشترین درصد ماندگاری شفیره (۹۷/۳۷) را داشت (جدول ۱). گزارش‌های پیشین بیان داشته‌اند که انتقال صفات مربوط به مقاومت در کرم ابریشم، عمدتاً از طریق پایه مادری مقاوم امکان‌پذیر بوده و برای بهبود خصوصیات تولیدی این پایه‌ها باید آنها را با پایه‌های پدری از نوع لاین‌های پرتولید تجاری تلاقی داد (سینق و همکاران، ۱۹۹۰؛ سن و همکاران، ۱۹۹۷؛ صیداوی و همکاران، ۲۰۰۴b). در واقع آمیزش لاین‌های با خصوصیات ژاپنی با یکدیگر و یا آمیزش لاین‌های با خصوصیات چینی با یکدیگر به دلیل تشابه ژنتیکی، نتایج مناسبی در آمیخته‌های حاصل ایجاد نمی‌کند. بنابراین در این آزمایش ابتدا ترکیبات چینی با یکدیگر و ترکیبات ژاپنی نیز با یکدیگر مقایسه شدند و ترکیبات امیدبخش انتخاب گردید. در ادامه دوازده ترکیب ژنتیکی موجود با هم مقایسه شدند.

پیش از این میرحسینی و همکاران (۱۳۸۳) گزارش کرده بودند خصوصیات پيله تحت تأثیر هر دو نوع اثرات ژنتیکی افزایشی و

غیر افزایشی قرار دارد؛ درحالی‌که تأثیر اثرات ژنتیکی غیر افزایشی روی صفات مقاومت بسیار ناچیز به نظر می‌رسد. با توجه به نتایج آزمایش‌های این پژوهشگران، معنی‌دار بودن ترکیب‌پذیری عمومی صفات مقاومت لاروی و شفیره در لاین‌های ژاپنی (علی‌رغم میانگین پایین این خصوصیات)، نشان‌دهنده وجود اثرات افزایشی در کنترل ژنتیکی این صفات است. در نتیجه می‌توان انتظار داشت با انتخاب لاین‌های ژاپنی برتر از نظر خصوصیات مقاومت به عنوان پایه والدینی برای آمیخته‌گری و آمیزش، مقاومت هیبریدها به میزان زیادی افزایش یابد. در مقابل، در لاین‌های چینی (علی‌رغم برتری در میانگین صفات مقاومت)، صفات مقاومت از واریانس ژنتیکی افزایشی پایینی برخوردار بوده و انتظار می‌رود در هیبریدهای حاصل، از نظر مقاومت بهبود قابل توجهی ایجاد نشود (میرحسینی و همکاران، ۱۳۸۳).

آزمایش‌های صیداوی و همکاران (۱۳۸۶b) هم نشان داده بود واریانس ترکیب‌پذیری عمومی صفات مقاومت (که نشان‌دهنده واریانس ژنتیکی افزایشی می‌باشد) در لاین‌های ژاپنی بسیار بیشتر از لاین‌های چینی است. در نتیجه در لاین‌های چینی واریانس ژنتیکی غیرافزایشی سهم عمده‌ای از تنوع صفات مقاومت را تشکیل می‌دهد؛ درحالی‌که در لاین‌های ژاپنی واریانس ژنتیکی افزایشی برای صفات تعداد لارو زنده، تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره به ترتیب ۰/۵، ۳ و ۱۵ برابر واریانس ژنتیکی غیر افزایشی بود. سهم واریانس ژنتیکی افزایشی و غیر افزایشی از واریانس کل صفت وزن پيله در لاین‌های ژاپنی هم تقریباً برابر بود؛ اما در لاین‌های چینی وزن پيله بیشتر تحت تأثیر اثرات ژنتیکی غیر افزایشی قرار داشت. همچنین طبق گزارش همین پژوهشگران (میرحسینی و همکاران، ۱۳۸۳؛ صیداوی و همکاران، ۱۳۸۶a؛ صیداوی و همکاران، ۱۳۸۷)، صفات وزن قشر پيله و درصد قشر پيله به شدت تحت تأثیر اثرات ژنتیکی غیر افزایشی قرار دارند. چنین استدلالی پیش از این نیز توسط Nagaraja و همکاران (۱۹۹۶) در مورد واریته‌های کشورهای دیگر منتشر شده بود.

جدول ۱- مقایسه عملکرد آمیخته‌های حاصل از تلاقی پایه‌های مادری چینی و ژاپنی با لاین‌های پدری مربوطه در محیط آلوده به ویروس عامل گراسری^۱

لاین پدری	× پایه مادری	وزن پيله (گرم)	تعداد لارو زنده	درصد ماندگاری شفیره (%)
ترکیبات چینی	110.104	D1/271C	BC177/2C	B95/80C
	110.104	E1/175D	B189/4B	AB96/2B
	110.104	D1/238C	D158/3D	B95/04C
	Koming	B1/345B	A218/7A	A98/11A
	Koming	A1/397A	A226/3A	A97/51A
	Koming	B1/359B	C170/2C	AB96/50B
ترکیبات ژاپنی	103.M.1.1	B1/344A	A217/8A	B95/17AB
	103.M.1.1	B1/344A	A221/8A	AB96/33A
	103.M.1.1	C1/318B	A225/1A	A97/37A
	M.1.1.103	D1/261C	C171/1C	C91/72C
	M.1.1.103	D1/256C	B195/9B	B94/07B
	M.1.1.103	C1/308B	A220/4A	AB96/09A

^۱ در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری (در سطح ۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

^۲ در هر ستون حروف سمت راست میانگین‌ها مربوط به مقایسه بین ترکیبات چینی با هم و مقایسه ترکیبات ژاپنی با هم و حروف سمت چپ میانگین‌ها مربوط به مقایسه بین دوازده هیبرید با هم است.

و هو، ۱۹۹۲؛ سن و همکاران، ۱۹۹۷). این محققان (چنگ و هو، ۱۹۹۲؛ سن و همکاران، ۱۹۹۷) گزارش کرده بودند آمیخته‌های اصلاح شده، مقاومت و تولید بیشتری از آمیخته‌های قدیمی دارند. جاباسوال و همکاران (۲۰۰۰) و سوفی و همکاران (۱۹۹۹) هم با آنالیز توارث‌پذیری صفات کمی دریافتند صفات عملکردی از توارث‌پذیری بالایی در دامنه ۰/۴۸ تا ۰/۶۴ برخوردارند؛ در حالی که صفات مرتبط با شایستگی و ماندگاری از توارث‌پذیری کمتری (در دامنه ۰/۱۸ تا ۰/۲۵) برخوردارند. این نتایج تأییدکننده نظریه قدیمی مبنی بر پایین بودن تنوع ژنتیکی خصوصیات ماندگاری و تولیدمثلی در حیوانات است.

در مقایسه مقایسه بین دوازده هیبرید با هم مشخص شد که هیبرید چینی Koming×104، به‌طور معنی‌داری بالاترین وزن پيله را در بین تمام دوازده هیبرید مورد مطالعه دارا است (P<۰/۰۵).

گروه‌های ژاپنی و چینی از نظر خصوصیت وزن پيله تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند، در حالی که گروه ژاپنی از نظر تعداد لارو زنده ($P<۰/۰۰۰۱$) و گروه چینی از نظر درصد ماندگاری شفیره ($P<۰/۰۱$) به‌طور معنی‌داری در سطح بالاتری قرار داشتند. بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که لاین‌های ژاپنی در مرحله لاروی و لاین‌های چینی در مرحله شفیرگی از مقاومت ژنتیکی بالاتری برخوردار هستند. زو و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند سویه‌های ژاپنی نسبت به سویه‌های چینی از مقاومت بالاتری در هر دو مرحله لاروی و شفیرگی برخوردارند. نتایج حاصل نشان داد آمیخته‌های حاصل از لاین‌های 103.M.1.1 و Koming از نظر خصوصیات تولیدی و مقاومت، برتری چشمگیری در مقایسه با دو لاین دیگر دارند. نتایج حاصل مبنی بر وجود تفاوت معنی‌دار بین عملکرد آمیخته‌ها با نتایج سایر تحقیقات مطابقت دارد (چنگ

تفاوت ساختار ژنتیکی و مولفه‌های موثر بر ژنتیک مقاومت آنها باشد. به همین دلیل انتظار می‌رود این نتایج در نسل‌های بعد هم ایجاد شوند.

در برنامه‌ریزی‌ها جهت انتخاب لاین‌های والد، باید به میزان هتروزیس حاصل در نتایج از نظر مقاومت توجه لازم را مبذول داشت (اسکاپ، ۱۹۹۳). همچنین از نتایج حاصل چنین استنباط می‌شود که ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای در دو مرحله لاروی و شفیرگی سبب ایجاد اختلالات فیزیولوژیک و در نتیجه کاهش عملکرد تولیدی و مرگ و میر حشره می‌گردد. پیش از این هم گزارش شده بود که بیشترین تأثیر منفی ویروس، به ترتیب روی خصوصیات تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره و کمترین تأثیر آن روی درصد قشر پيله ظاهر می‌گردد (لی و همکاران، ۱۹۹۴). این مسأله نشان می‌دهد که اوج بیماری‌زایی ویروس در مرحله شفیرگی است که موجب کاهش کیفیت پيله و ابریشم استحصالی خواهد گردید. در نتیجه انتظار می‌رود خسارت وارده در نتیجه بروز این بیماری بر کارخانجات ابریشم‌کشی و مراکز تولیدکننده تخم نوغان بیشتر از نوغانداران تولیدکننده پيله باشد (اسکاپ، ۱۹۹۳). سینق و همکاران (۱۹۹۰) هم گزارش‌هایی مبنی بر وجود تفاوت در مقاومت هیبریدهای کرم ابریشم در شرایط طبیعی منتشر ساختند که نتایج تحقیق حاضر تأییدکننده آن است؛ زیرا در این آزمایش هم مشخص شد آمیخته‌های با پایه‌های پدری و مادری متفاوت، اختلاف معنی‌داری از نظر مقاومت دارند (جدول ۱). میرحسینی و همکاران (۱۳۸۶) و صیداوی و همکاران (۱۳۸۶a) پیش از این گزارش کرده بودند کارآیی انتخاب مستقیم روی خصوصیات پيله که از مهم‌ترین صفات اقتصادی کرم ابریشم است به دلیل وراثت‌پذیری زیاد (۵۰-۴۰ درصد) آنها بسیار بالا است. نکته دیگر این‌که معمولاً در محیط آلوده با حذف افراد حساس و در نتیجه کاهش تنوع ژنتیکی افزایشی، نسبت واریانس ژنتیکی غیر افزایشی افزایش یافته و درصد هتروزیس بالاتری حاصل می‌شود (پالهان و گوپیناتان، ۱۹۹۶).

در مجموع با توجه به نتیجه فوق لازم است برنامه غربالگری ژنتیکی در محیط آلوده از طریق تلاقی برگشتی و ایجاد همخوانی در چندین نسل روی دو لاین فوق و آمیخته‌های آنها انجام شود.

همچنین همین هیبرید Koming×104 به همراه هیبرید چینی Koming×32 و چهار هیبریدهای ژاپنی 103.M.1.1×31، 103.M.1.1×103، 103.M.1.1×107 و 103.M.1.1×107 بیشترین تعداد لارو زنده را داشتند ($P < 0.05$). بالاخره این‌که هیبریدهای Koming×32، Koming×104 و 103.M.1.1×107 دارای بالاترین درصد ماندگاری شفیره بودند ($P < 0.05$). پیش از این هم وجود اختلاف در میانگین صفات اقتصادی فوق گزارش شده بود (رحمان و همکاران، ۱۹۹۵). ایمانیشی و همکاران (۱۹۹۳)، باساواراجا و همکاران (۱۹۹۵) و راتان سن و همکاران (۱۹۹۹) هم، پیش از این نتایج مشابهی را در مورد هیبریدهای کشورشان گزارش کرده و علت این امر را به توانایی‌های ژنتیکی متفاوت این هیبریدها نسبت داده بودند. نکته دیگر این است که با توجه به این‌که اختلافات ژنتیکی، منشأ توانایی‌های ژنتیکی مختلف می‌باشد، لذا تفاوت عملکرد هیبریدهای مختلف علاوه بر اختلافات ژنتیکی هیبریدها در مقاومت به بیماری گراسری، ناشی از تفاوت توانایی‌های ژنتیکی آنها در شرایط تنش آلودگی به پلی‌هیدروسیس هسته‌ای (اثر متقابل ژنوتیپ و محیط) هم است. زو و همکاران (۱۹۹۸) با بررسی اثرات ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای دریافتند میزان مقاومت به این ویروس در لاین‌های چینی و ژاپنی متفاوت است. به عقیده آنها علت این پدیده را باید در منشأ جغرافیایی و شرایط محیطی که وارثه‌های فوق در آن تکامل یافته و همچنین سابقه اصلاح نژادی آنها و تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی دانست. بررسی‌های قبلی نشان داده است که صفات عملکرد و مقاومت به برخی بیماری‌ها در کرم ابریشم همبستگی منفی دارند (صیداوی و همکاران، ۱۳۸۲؛ صیداوی و همکاران، ۱۳۸۶a). واتاناب (۱۹۸۶) هم اظهار داشت بر اثر دخالت این عوامل طبیعی و مصنوعی، ژن‌های لاین‌های ژاپنی در جهت افزایش مقاومت به شرایط نامساعد و عوامل بیماری‌زا تجمیع یافته‌اند، در حالیکه ژن‌های لاین‌های چینی در جهت افزایش عملکرد تولید تجمیع یافته‌اند. واتاناب (۱۹۸۶) توانست نشان دهد مقدار کاهش عملکرد آمیخته‌های مختلف کرم ابریشم هنگام آلودگی به ویروس متفاوت است. به عقیده وی علت تفاوت آمیخته‌ها با یکدیگر و نیز گروه‌های چینی و ژاپنی با هم، می‌تواند

نژاد اصلاح شده کرم ابریشم توت. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۰(۱): ۱۳۸-۱۴۳.

۶- میرحسینی، س.ض.، ع.ر. صیداوی، و م. غنی‌پور. ۱۳۸۳. برآورد پارامترهای قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی در لاین‌های جدید کرم ابریشم و هتروزیس هیبریدهای حاصل از تلاقی آنها. مجله نامه انجمن حشره‌شناسی ایران. ۲۴(۲): ۶۱-۸۰.

7. Basavaraja, H.K., S. Nirmal Kumar, N. Suresh Kumar, N. Mal Reddy., K. Giridhar, M.M. Ashan., and R.K. Datta. 1995. New productive bivoltine hybrids. *Indian Silk*. (3): 5-9.

8. Cheng, L.J. and R.F. Hou. 1992. Factors enhancing *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus infection *in vitro*. *Journal of Applied Entomology*. 113(1): 103-106.

9. ESCAP. 1993. Principles and techniques of silkworm breeding. New York, United Nations.

10. Haque, M.T., S.M. Rahman. and M.A. Salam. 1997. Development of high yielding bivoltine silkworm races of *Bombyx mori* L. suitable for the climatic conditions of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Zoology*. 25(1): 71-76.

11. Imanishi, S., H. Inoue., J. Kobayashi., O.K. Kadono., H. Kawamoto., S. Belloncik., N. Kuwabara., H. Sakamoto., and S. Tomita., 1993. *In vitro* multiplication of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. *Bulletin of the National Institute of Sericultural and Entomological Science*. (7): 9-29.

12. Jayaswal, K.P., S. Masilamani., V. Lakshmanan., S.S. Sindagi., and R.K. Datta. 2000. Genetic variation, correlation and path analysis in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 40: 211-223.

13. Li, W.G., G.J. Zhang., H.L. Wang. and T.Y. Zhang. 1994. Studies on free proline contents and resistance to NPV in different varieties of chinese silkworm. *Journal of Shandong Agricultural University*. 25(3): 272-276.

14. Nagaraja, M., R. Govindan and T. K. Narayanaswamy, 1996. Estimation of combining ability in eri silkworm *Samia Cynthia ricini* Boisduval for pupal and allied traits. *Mysore Journal of Agricultural Science*. 30 (1): 48-51.

15. Palhan, V.B. and K.P. Gopinathan. 1996. Characterization of a local isolate of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. *Current Science*. 70 (2): 147-153.

16. Rahman, S. M., M. Khalequzmann and M. S. Rahman, 1995. Combining ability analysis for filament length in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Bangladesh Journal of Zoology*. 23(1): 23-28.

17. Ratan Sen, M.M. Ahsan., and R.K. Datta. 1999. Induction of resistance to *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus into a susceptible bivoltine silkworm breed. *Indian Journal of Sericulture*. (38): 107-112.

18. SAS Institute, 1988. SAS/Stat User's Guide Release. 6th ed., SAS Institute INC., Cary, NC.

همچنین با توجه به نتایج به دست آمده پیشنهاد می‌گردد لاین پایه مادری Koming برای آمیزش با لاین پایه پدری 104 و لاین پایه مادری 103.M.1.1 برای آمیزش با لاین پایه پدری 107 مرتباً و به منظور تولید هیبریدهای مقاوم به بیماری گراسری و دارای خصوصیات عملکردی مطلوب مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از مدیریت و پرسنل مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور به دلیل همکاری در انجام آزمایش و فراهم آوردن امکانات اجرایی تحقیق ابراز می‌دارند.

منابع

۱- صیداوی، ع. ر.، س.ض.، میرحسینی، ع.ر.، بیژن‌نیا، و م. غنی‌پور. ۱۳۸۷. تأثیر انتخاب والدین بر اساس وزن پيله بر خصوصیات تولیدمثلی و مقاومت لاین‌های کرم ابریشم. مجله پژوهش و سازندگی. ۲۱(۱): ۹۵-۱۰۲.

۲- صیداوی، ع. ر.، م. غلامی، و م. بیابانی. ۱۳۸۲. بررسی میزان مقاومت لاین‌های کرم ابریشم به عامل بیماری موسکاردین سفید *Beauveria bassiana*. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۴(۳): ۷۰۱-۷۱۰.

۳- صیداوی، ع. ر.، س.ض.، میرحسینی، ع.ر.، بیژن‌نیا، و م. غنی‌پور. ۱۳۸۶a. بررسی تأثیر انتخاب برخی صفات کمی پيله در سطوح گله دودمان (۳P) و همبستگی آن با پارامترهای تولیدمثلی و مقاومت گله‌های هیبرید (F1) کرم ابریشم نسبت به بیماری‌ها. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۰(۳): ۲۶۲-۲۶۸.

۴- صیداوی، ع. ر.، س.ض.، میرحسینی، و م. غنی‌پور. ۱۳۸۶b. بررسی بیماری‌زایی و کارایی تلقیح دهانی غلظت LD₅₀ از ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای در ۳۶ وارته کرم ابریشم ایران *Bombyx mori* L. مجله پژوهش و سازندگی. ۲۰(۱): ۱۶۷-۱۷۴.

۵- میرحسینی، س.ض.، ع.ر.، بیژن‌نیا، ص. ویشکایی، و ع.ر. صیداوی. ۱۳۸۶. بررسی هتروزیس، ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی خصوصیات پيله در پنج گروه بومی و دو

19. Seidavi. A.R., M.R. Biabani. and M.R. Gholami. 2004a. The selection of highest resistant of silkworm commercial hybrids to viral disease of grasseri by means of screening technique. In proceedings of "Biology in Asia International Conference". PP 123-124.
20. Seidavi. A.R., M.R. Gholami. and A.R. Bizhannia. 2004b. Estimation of heritability and response to selection of cocoon weight for some biological characters in silkworms. In proceedings of "Biology in Asia International Conference". PP 124.
21. Seidavi. A.R., M.R. Gholami., A.R. Bizhannia. and M. Mavvajpoor. 2004c. Evaluation of heterosis, general and special combining ability for some biological characters in six silkworm lines. In proceedings of "Biology in Asia International Conference". PP 124-125.
22. Sen, R., A.K. Patnaik, M. Maheswari. and R.K. Datta. 1997. Susceptibility status of the silkworm germplasm stocks in India to *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. Indian Journal of Sericulture. 36(1): 51-55.
23. Singh, B.D., M. Biag, M. Balavenkatasubbaiah, S.D. Sharma, K. Sengupta. and N.S. Reddy. 1990. Studies on the relative susceptibility of different breeds of silkworm to disease under natural conditions. Indian Journal of Sericulture. 29(1): 142-144.
24. Sofi, A.M., M.A. Masoodi., and A.S. Kamili. 1999. Estimation of heritability and correlation of some quantitative traits in line \times tester analysis in silkworm, *Bombyx mori* L. Mysore Journal Agricultural Sciences. 33: 289-296.
25. Sohn, K.W., K.W. Hong., S.J. Hwang., K.S. Ryu., K.M. Kim., S.R. Choi., K.Y. Kim. and S.P. Lee. 1990. Breeding of Samkwangjam, a F1 hybrid silkworm variety suitable for summer-autumn rearing with the high silk yielding ability and a sex-limited parent. Research Reports of the Rural Development Administration, Farm Management, Agricultural Engineering and Sericulture. 32(2): 1-6.
26. Tewari, S.K., K. Vineet., R.K. Datta. and V. Kumar. 1996. Ultrastructural studies on nuclear polyhedrosis virus infecting silkworm, *Bombyx mori* L. Indian Journal of Experimental Biology. 34(2): 141-150.
27. Thiagarajan, V., S. Masilamani., M.M. Ahsan. and R.K. Datta. 1994. Stability analysis of economic traits in silkworm (*Bombyx mori* L.). Journal of Genetics and Breeding. 48(4): 345-351.
28. Watanabe, H. 1986. Resistance of the silkworm *Bombyx mori* L. to viral infection. Agricultural Ecosystem and Environment. 15: 131-139.
29. Zhu, Y and B.S. Weir. 1996. Diallel analysis for sex-linked and maternal effects. Theoretical and Applied Genetics. 92(1): 1-9.
30. Zhu, Y., C. Lu., P. Chen. and G. Yu. 1998. Genetic studies on the resistance to NPV in silkworm (*Bombyx mori* L.). Journal of Southwest Agricultural University. 20(2): 100-103.