

## بررسی بیماریزائی و کارآیی تلقیح دهانی غلظت LD<sub>۵۰</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای در ۳۶ وارینه کرم ابریشم ایران *Bombyx mori* L.

### • علیرضا صیداوی

دانشجوی دکتری تخصصی علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

### • سیدضیاءالدین میرحسینی

دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه گیلان

### • مانی غنی‌پور

مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۴

mail:alirezaseidavi@yahoo.com

### چکیده

بیماریزائی و کارآیی تلقیح غلظت LD<sub>۵۰</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای به روش دهانی در ۳۶ وارینه کرم ابریشم ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استخراج همولنف لاروهای مبتلا به بیماری گراسری، ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای خالص‌سازی شد و در ابتدای سن چهارم لاروی، به روش دهانی و با آغشته کردن برگ مصرفی به لاروها تلقیح گردید. داده‌های این پژوهش در قالب مدل‌های خطی تعمیم یافته با پنج تکرار (هر تکرار مشتمل بر ۲۵۰ لارو سن چهارم) تجزیه و تحلیل شد. تیمارها شامل دو حالت تلقیح یا عدم تلقیح غلظت LD<sub>۵۰</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای به روش دهانی، و وارینه‌ها شامل ۳۶ وارینه کرم ابریشم (۲۱ لاین خالص و ۱۵ هیبرید) و صفات مورد مطالعه نیز شامل تعداد لارو زنده، تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره بود. طبق نتایج آزمایش، لاین‌های با منشأ چینی از مقاومت بالاتری نسبت به لاین‌های با منشأ ژاپنی برخوردار بودند. همچنین صفات مقاومت به میزان زیادی تحت تأثیر هتروزیس قرار گرفتند، به طوری که درصد هتروزیس حاصل در محیط آلوده بالاتر بود. بر این اساس درصد هتروزیس صفات تعداد لارو زنده، تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره در محیط شاهد به ترتیب ۱۲/۰۹، ۱۶/۹۴ و ۳/۶ درصد و در محیط آلوده به ترتیب ۱۱/۶۷، ۲۷/۱۳ و ۱۴/۲۶ درصد بود. آلوده‌سازی وارینه‌ها به روش دهانی میانگین صفات فوق را به ترتیب ۳۳/۴۴ لارو، ۸۰/۳۵ شفیره و ۳۲/۴۲ درصد کاهش داد ( $p > /0001$ ). در نتیجه می‌توان گفت کارآیی تلقیح خوراکی غلظت LD<sub>۵۰</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای در آلوده‌سازی لاروها بسیار بالا می‌باشد.

کلمات کلیدی: کرم ابریشم، وارینه، ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای، کارآیی تلقیح، LD<sub>۵۰</sub>

Pajouhesh &amp; Sazandegi No 74 pp: 167-174

**Investigation on pathogenesis and oral LD<sub>50</sub> concentration inoculation of nuclear polyhedrosis virus in 36 Iranian silkworm varieties, *Bombyx mori* L.**

By: A.R. Seidavi, PhD Student of Animal Science, Islamic Azad University, Science and Research branch, S.Z. Mirhosseini, Associate Professor of Animal Science Department, Guilan University and M. Ghanipoor, Iran Silkworm Research Center

Pathogenesis and efficiency of LD50 concentration inclusion of nuclear polyhedrosis virus orally was evaluated in 36 Iranian silkworm varieties. After extracting hemolymph of infected larvae to grasserie disease, polyhedrosis virus was purified and fed to larvae infected consumed leaf orally at the beginning of fourth instar. Treatments of this investigation were conducted in generalized linear models with five replications (each replication including 250 fourth instar larvae). The treatments included inoculation or without inoculation of LD50 concentrations of polyhedrosis virus orally, and varieties included 36 silkworm varieties (21 pure lines and 15 hybrids). Furthermore, the studied traits included survival larvae number, survival pupae number and pupation rate. From obtained results, the Chinese origin lines had higher resistance than Japanese origin lines. Furthermore, the resistance traits were highly affected by heterosis, so heterosis percentage was higher in infected environment. In control environment, heterosis for survival larvae number, survival pupae number and pupation rate was 12.09, 16.94 and 3.6 percent, respectively and in infected larvae was 11.67, 27.13 and 14.26 percent, respectively. The averages of these characters were reduced 33.44 larvae, 80.35 pupae and 32.42 percent, respectively as a result of infecting the varieties with NPV ( $P < 0.0001$ ). Thus, the efficiency of LD50 concentration inoculation of nuclear polyhedrosis virus orally is very high for infecting larvae.

**Keywords:** Silkworm, Variety, Nuclear polyhedrosis virus, Inoculation efficiency, LD50

**مقدمه**

ویروس NPV هم از کاربردهای دیگر این ویروس است (۱۷). تولید ویروسی نو ترکیب با استفاده از NPV و کاربرد آن بعنوان یک آنتی ژن تشخیصی جهت شناسایی پادتن‌ها در سرم موش صحرایی نیز گزارش شده است (۱۶). تکثیر ویروس NPV در سلول‌های چربی نیز مورد بررسی قرار گرفت (۵). با تجزیه و تحلیل اطلاعات ژنتیکی یک قطعه DNA از ویروسی جدید در کرم ابریشم، این شیوه عمل در سایر ویروسها نیز قابل تعمیم دانسته شده است (۸).

بنابراین جداسازی صحیح این ویروس و دستیابی به تکنیک مناسب در این زمینه از اهمیت زیادی در جهت توسعه تحقیقات در زمینه‌های فوق برخوردار است. علاوه بر این در صنعت نوغانداری جهت آزمون واریته‌های جدید کرم ابریشم لازم است پس از جدا و خالص سازی این ویروس، اقدام به تلقیح غلظتی (معمولا LD<sub>50</sub>) از آن جهت آلوده‌سازی واریته‌های جدید و سنجش میزان مقاومت آنها به بیماری گراسری گردد (۲). لذا به منظور بررسی کارآیی، جداسازی و تلقیح غلظت LD<sub>50</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای به روش دهانی در ۳۶ واریته کرم ابریشم ایران *Bombyx mori* L. و تعیین صحت شیوه‌ها و دستورالعمل‌های موجود فعلی برای خالص و جداسازی این ویروس، آزمایش فعلی طراحی و اجرا گردید.

ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای (NPV) از اهمیت زیادی در کشاورزی و صنعت برخوردار است. پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای کاربردی گسترده در بیوتکنولوژی دارد و از آن به کرات در تحقیقات پزشکی استفاده می‌شود (۷، ۹). علاوه بر این، ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای کاربردی وسیعی به عنوان حامل در تحقیقات پزشکی و میکروبیولوژی دارد. مشخصات ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای کرم ابریشم به روش PCR بررسی شده است (۱، ۴). با استفاده از میکروسکوپ الکترونی طول و عرض سویه‌ای از این ویروس به ترتیب ۵ و ۰/۵ میکرومتر گزارش گردید و همچنین در سانتی‌فوژ شیب غلظتی ذرات این ویروس، چند باند مجزا تشکیل شد. در پژوهشی دیگر با یک سویه جدید عنوان شد که شکل پلی‌هیدرات‌های این ویروس از اکتاهیدرال تا هگزاهیدرال و اندازه آن از ۲/۵-۲ میکرون متغیر است و شکل هگزاهیدرون نیز برای این ویروس گزارش شده است (۱۴). گزارش‌هایی از کاربرد این ویروس در تولید هورمون رشد انسانی (HGH) منتشر شده (۳) و از این ویروس به عنوان حامل برای بررسی عملکرد ۲۸ kD-گلوتاتیون-S-ترانسفراز (GST) استفاده شده است (۶، ۱۵، ۱۸). همسانه‌سازی و تعیین توالی ژن هلیکاز در



لارو، ۶۲/۵۵ شفیره و ۳۱/۲۴ درصد ( $p > 0.001$ )، در لاین‌های با منشأ چینی به ترتیب ۴۴/۸۳ لارو، ۸۹/۵۵ شفیره و ۳۵/۲۱ درصد ( $p > 0.001$ ) و در هیبریدها به ترتیب ۳۵/۰۵ لارو، ۸۱/۶ شفیره و ۲۹/۸۵ درصد ( $p > 0.001$ ) بود که با گزارش‌های اسکاپ (۲) و Gopinathou و palhan (۱۰) مطابقت دارد.

طبق نتایج بدست آمده لاین‌های چینی از مقاومت بالاتری نسبت به لاین‌های ژاپنی برخوردار بودند ( $p > 0.001$ ). این در حالی است که Zhu و همکاران اعلام کردند سویه‌های ژاپنی نسبت به سویه‌های چینی به ویروس مقاوم‌تر هستند (۱۹). میانگین صفات تعداد لارو زنده و تعداد شفیره زنده در هیبریدها بالاتر از لاین‌های ژاپنی و چینی بوده و برای درصد ماندگاری شفیره بالاتر از میانگین لاین‌های ژاپنی و چینی بود ( $p > 0.001$ ) که با نتایج Zhu و همکاران (۱۹) مطابقت دارد. در محیط شاهد میزان هتروزیس صفات تعداد لارو زنده، تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره به ترتیب ۱۲/۰۹، ۱۶/۹۴ و ۳/۶ درصد و در محیط آلوده به ترتیب ۱۱/۶۷، ۲۷/۱۳ و ۱۴/۲۶ درصد بود. صفت تعداد شفیره زنده بالاترین درصد هتروزیس را نسبت به دو خصوصیت دیگر آشکار کرد. تفاوت درصد هتروزیس صفت تعداد لارو زنده در دو محیط شاهد و آلوده معنی‌دار نبود، درحالی‌که درصد هتروزیس برای صفات تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره در محیط آلوده معنی‌دار و بالاتر بود ( $p > 0.001$ ).

در جداول ۴، ۵ و ۶ میانگین صفات مورد مطالعه به تفکیک تیمارهای شاهد و آلوده به ترتیب در واریته‌های ژاپنی، چینی و هیبریدها نشان داده شده است. در واریته‌های ژاپنی به استثنای لاین‌های Xinhang ۲ و M. ۱.۱.۳۱ تاثیر آلوده‌سازی برگ توت بر مرگ و میر لاروها معنی‌دار نبود، در حالیکه مرگ و میر شفیره‌ها را به طور معنی‌داری کاهش داد ( $p > 0.001$ ). در نتیجه ظهور اصلی بیماری را باید در مرحله شفیرگی (بعد از تنیدن پیله) دانست. تاثیر آلوده‌سازی در کاهش عملکرد لاین تجاری ۱۰۷ کمتر از سایر لاین‌های ژاپنی بود و در واقع عملکرد لاین فوق در محیط‌های پرورشی آلوده کمتر تحت تاثیر قرار می‌گیرد و از ثبات عملکرد بالاتری برخوردار است. در لاین‌های چینی هم اختلاف بین تیمارهای شاهد و آلوده برای صفت تعداد لارو زنده در واریته‌های ۳۲، ۱۱۰، ۱۰۴، ۱۰۴ و Koming ۱ معنی‌دار نبود. در میان واریته‌های چینی، تلقیح خوراکی ویروس تاثیر کمتری در کاهش عملکرد و مرگ و میر لارو و شفیره در لاین Koming ۱ داشت و میتوان لاین فوق را مقاوم‌ترین لاین در میان واریته‌های چینی دانست.

### بحث و نتیجه‌گیری

معنی‌دار بودن اثر گروه‌های ژنتیکی و واریته‌های کرم ابریشم در صفات مقاومت به ویروس NPV، پیش از این نیز توسط اسکاپ (۲) گزارش شده بود. همچنین با دانستن این نکته که گروه‌های ژنتیکی و واریته‌های مختلف از لحاظ مقاومت ژنتیکی در برابر شرایط محیطی در سطح متفاوتی قرار داشته و تاثیر تلقیح خوراکی ویروس در آلوده‌سازی لاروها معنی‌دار است، از خصوصیت مذکور می‌توان به منظور انتخاب واریته مناسب با شرایط پرورشی و نیز انتقال ژن‌های مقاومت از واریته‌های مقاوم به لاین‌های حساس استفاده نمود. پیش از این نیز Zhu و همکاران در ۱۹۹۸ به نتایج مشابهی در خصوص وجود تفاوت معنی‌دار بین سویه‌ها

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مقاومت (میانگین مربعات) به تفکیک واریته‌های ژاپنی، چینی و هیبریدها<sup>(۱)</sup>

منبع تغییر	واریته‌های ژاپنی				واریته‌های چینی				هیبریدها			
	درجه آزادی	تعداد لارو زنده	تعداد شفیره زنده	درصد ماندگاری شفیره	درجه آزادی	تعداد لارو زنده	تعداد شفیره زنده	درصد ماندگاری شفیره	درجه آزادی	تعداد لارو زنده	تعداد شفیره زنده	درصد ماندگاری شفیره
خطا	۷۷	۳۳/۴۲۶	۵/۷۲۲	۶۱/۷۹	۸۸	۹۳/۵۷۵	۲/۶۹۰	۷۲/۱۱۹	۱۲۶	۱۱/۶۹۸	۶۸/۱۱۲۹	۰/۶۱۹۳
تیمار	۱	۵۱۷۸/۸۸ <sup>C</sup>	۸۵۰۶۵/۷۶ <sup>D</sup>	۲۱۷۲۳/۱۴ <sup>D</sup>	۱	۴۸۰۱۸/۷۹ <sup>D</sup>	۱۹۴۶۲/۱۴ <sup>D</sup>	۳۰۲۳۷/۵۳ <sup>D</sup>	۱	۴۱۸۴۳/۳۹ <sup>D</sup>	۳۳۱۷۳/۳۹ <sup>D</sup>	۳۰۹۷/۴۶ <sup>D</sup>
واریته	۱۰	۱۹۶۸/۳۹ <sup>D</sup>	۹۶۰/۱۹ <sup>D</sup>	۳۳۰۷/۵۵ <sup>D</sup>	۹	۶۱۵۵/۹۱ <sup>D</sup>	۶۳۶۲/۰۵ <sup>D</sup>	۴۵۵/۷ <sup>C</sup>	۱۴	۳۳۶۵/۸۵ <sup>D</sup>	۱۳۲۷/۹ <sup>D</sup>	۲۳۳۶/۱ <sup>D</sup>

(۱) C= معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱، d= معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱

جدول ۳- میانگین صفات مقاومت در تیمارهای شاهد و آلوده به تفکیک گروه‌های مختلف ژنتیکی و درصد هتروزیس حاصل در صفات<sup>(۱)</sup>

درصد ماندگاری سفیره		تعداد سفیره زنده		تعداد لارو زنده		
تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	
۶۷/۴۳ <sup>D</sup>	۳۶/۱۹ <sup>D</sup>	۱۲۶/۴۱ <sup>D</sup>	۶۳/۸۶ <sup>D</sup>	۱۸۷/۶۴ <sup>C</sup>	۱۷۱/۱۴ <sup>C</sup>	میانگین وارپته‌های ژاپنی
۸۴/۷۲ <sup>D</sup>	۴۹/۵۱ <sup>D</sup>	۱۶۹/۵۳ <sup>D</sup>	۷۹/۹۸ <sup>D</sup>	۱۹۹/۳۱ <sup>D</sup>	۱۵۴/۴۸ <sup>D</sup>	میانگین وارپته‌های چینی
۷۸/۸۱ <sup>D</sup>	۴۸/۹۶ <sup>D</sup>	۱۷۳/۰۳ <sup>D</sup>	۹۱/۴۳ <sup>D</sup>	۲۱۶/۸۶ <sup>D</sup>	۱۸۱/۸۱ <sup>D</sup>	میانگین هیبریدها
۷۷/۸۳ <sup>D</sup>	۴۵/۴۱ <sup>D</sup>	۱۶۰/۴۴ <sup>D</sup>	۸۰/۰۹ <sup>D</sup>	۲۰۴/۲ <sup>D</sup>	۱۷۰/۷۶ <sup>D</sup>	میانگین کل وارپته‌ها
۶/۳	۲۶/۱۴	۹۴/۱۶	۱۳/۲۷	۰۹/۱۲	۶۷/۱۱	درصد هتروزیس

(۱) C= معنی دار در سطح ۰/۰۰۱، d= معنی دار در سطح ۰/۰۰۰۱ (در هر گروه مقایسه بین تیمارهای شاهد و آلوده صورت گرفته است)

جدول ۴- میانگین صفات مقاومت در وارپته‌های ژاپنی به تفکیک تیمارهای شاهد و آلوده<sup>(۱)</sup>

درصد ماندگاری سفیره		تعداد سفیره زنده		تعداد لارو زنده		وارپته
تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	
۷۷/۷۵ <sup>b</sup>	۲۸/۶۷ <sup>b</sup>	۱۱۳/۲ <sup>b</sup>	۴۸/۶ <sup>b</sup>	۱۷۱/۸ <sup>ns</sup>	۱۴۶/۸ <sup>ns</sup>	Xinhang <sub>1</sub>
۸۰/۳۵ <sup>d</sup>	۲۲/۰۲ <sup>d</sup>	۱۵۱ <sup>d</sup>	۳۱/۶ <sup>d</sup>	۱۸۷/۶۷ <sup>b</sup>	۱۴۳/۶ <sup>b</sup>	Xinhang <sub>2</sub>
۷۴/۲۹ <sup>a</sup>	۲۵/۳۱ <sup>a</sup>	۱۵۲ <sup>a</sup>	۴۲/۸ <sup>a</sup>	۲۰۲ <sup>ns</sup>	۱۶۳/۶ <sup>ns</sup>	Xinhang <sub>3</sub>
۵۰/۳۹ <sup>b</sup>	۲۹/۶۹ <sup>b</sup>	۹۷/۲ <sup>b</sup>	۴۹ <sup>b</sup>	۱۹۲ <sup>ns</sup>	۱۶۲ <sup>ns</sup>	M.۱.۱.۳۱
۷۱/۷۷ <sup>b</sup>	۴۱/۹۸ <sup>b</sup>	۱۴۰/۵ <sup>b</sup>	۶۹/۴ <sup>b</sup>	۱۹۵ <sup>a</sup>	۱۶۴/۶ <sup>a</sup>	M.۱.۱.۳۱
۸۹/۶۷ <sup>b</sup>	۷۱/۹۲ <sup>b</sup>	۱۸۶/۲ <sup>a</sup>	۱۵۰ <sup>a</sup>	۲۰۷/۴ <sup>ns</sup>	۲۰۸/۳ <sup>ns</sup>	M.۱.۱.۱۰۳
۵۳/۰۳ <sup>b</sup>	۲۵/۷۸ <sup>b</sup>	۱۰۹ <sup>b</sup>	۴۹/۶ <sup>b</sup>	۲۰۵/۶ <sup>ns</sup>	۱۹۳/۲ <sup>ns</sup>	۳۱
۸۳/۳۷ <sup>b</sup>	۴۹/۲ <sup>b</sup>	۱۴۷ <sup>b</sup>	۸۳/۴ <sup>b</sup>	۱۷۷/۲ <sup>ns</sup>	۱۶۷/۴ <sup>ns</sup>	۱۰۳
۳۶/۳۸ <sup>a</sup>	۱۶/۴۵ <sup>a</sup>	۶۹/۶ <sup>ns</sup>	۲۸/۲ <sup>ns</sup>	۱۸۵/۲ <sup>ns</sup>	۱۶۳/۲ <sup>ns</sup>	۱۰۷

(۱) A= معنی دار در سطح ۰/۰۰۵، b= معنی دار در سطح ۰/۰۱، c= معنی دار در سطح ۰/۰۰۱، D= معنی دار در سطح ۰/۰۰۰۱، ns= عدم وجود تفاوت معنی دار (در هر وارپته مقایسه بین تیمارهای شاهد و آلوده صورت گرفته است)

چینی از راهکارهای بسیار مهم در افزایش مقاومت وارپته‌های هیبرید و بهبود کارایی تولید ابریشم خواهد بود. در برنامه‌ریزی‌ها جهت انتخاب لاین‌های والد، باید به میزان هتروزیس حاصل در نتاج از نظر مقاومت توجه لازم را مبذول داشت (۲). 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 تاثیر منفی ویروس، به ترتیب روی خصوصیات تعداد سفیره زنده و درصد ماندگاری سفیره و کمترین تاثیر آن روی درصد

و هیبریدها از نظر مقاومت به ویروس پلی‌هیدروسیس هسته‌ای دست یافته بودند. آنها همچنین عقیده داشتند خصوصیت مقاومت بوسیله چندین ژن کنترل می‌شود (۱۹). بالاتر بودن مقاومت لاین‌های چینی نسبت به لاین‌های ژاپنی بر خلاف نظر Zhu و همکاران (۱۹۹۸) است که اعلام کردند سویه‌های ژاپنی نسبت به سویه‌های چینی به ویروس مقاومتر هستند (۱۹). احتمال می‌رود نژادهای چینی در نسل‌های متوالی تحت تاثیر انتخاب طبیعی و حذف افراد حساس، دارای مقاومت بالایی شده باشند. نتایج فوق نشان می‌دهد صفات مقاومت تحت تاثیر هتروزیس قرار می‌گیرند. بنابراین آمیخته‌گری لاین‌های ژاپنی و

جدول ۵- میانگین صفات مقاومت در وارپته‌های چینی به تفکیک تیمارهای شاهد و آلوده<sup>(۱)</sup>

درصد ماندگاری شفیره		تعداد شفیره زنده		تعداد لارو زنده		وارپته
تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	
۶۰/۴۵ <sup>a</sup>	۸۷/۹۸ <sup>a</sup>	۱۱۸/۶ <sup>a</sup>	۱۸۸/۲ <sup>a</sup>	۱۹۰/۲ <sup>ns</sup>	۲۱۴/۲ <sup>ns</sup>	Koming <sub>۱</sub>
۶۳/۲۶ <sup>c</sup>	۹۰/۱۹ <sup>c</sup>	۱۱۵/۸ <sup>d</sup>	۱۹۳/۸ <sup>d</sup>	۱۸۳ <sup>a</sup>	۲۱۴/۸ <sup>a</sup>	Koming <sub>۲</sub>
۴۰/۷۹ <sup>c</sup>	۷۹/۵ <sup>c</sup>	۶۸/۸ <sup>c</sup>	۱۶۴/۶ <sup>c</sup>	۱۶۵/۲ <sup>b</sup>	۲۰۶/۶ <sup>b</sup>	Y
۴۵/۸ <sup>c</sup>	۸۶/۷۹ <sup>c</sup>	۶۴/۸ <sup>d</sup>	۱۶۶/۶ <sup>d</sup>	۱۳۷/۸ <sup>b</sup>	۱۹۱/۸ <sup>b</sup>	۳۲.۱۱۰
۵۲/۷۵ <sup>c</sup>	۸۶/۵۷ <sup>c</sup>	۹۸/۶ <sup>d</sup>	۱۹۴/۲ <sup>d</sup>	۱۸۵/۸ <sup>b</sup>	۲۲۴/۶ <sup>b</sup>	۱۱۰.۳۲
۴۵/۶ <sup>b</sup>	۸۲/۸۲ <sup>b</sup>	۷۲/۲ <sup>b</sup>	۱۵۱/۸ <sup>b</sup>	۱۵۲/۴ <sup>ns</sup>	۱۸۲/۲ <sup>ns</sup>	۱۰۴.۱۱۰
۵۹/۸۵ <sup>b</sup>	۸۹/۶۶ <sup>b</sup>	۱۰۶ <sup>c</sup>	۲۰۰/۲ <sup>c</sup>	۱۷۴/۸ <sup>a</sup>	۲۲۵/۸ <sup>a</sup>	۱۱۰.۱۰۴
۵۳/۸۱ <sup>b</sup>	۷۷/۸۲ <sup>b</sup>	۷۶ <sup>a</sup>	۱۴۰ <sup>a</sup>	۱۳۶/۸ <sup>ns</sup>	۱۷۸/۴ <sup>ns</sup>	۳۲
۳۱/۶۴ <sup>d</sup>	۸۰/۵۹ <sup>d</sup>	۳۸/۸ <sup>c</sup>	۱۲۹/۲۵ <sup>c</sup>	۱۱۹/۸ <sup>ns</sup>	۱۵۸/۷۵ <sup>ns</sup>	۱۰۴
۴۱/۱۵ <sup>d</sup>	۸۴/۴۷ <sup>d</sup>	۴۰/۲ <sup>d</sup>	۱۵۸/۶ <sup>d</sup>	۹۹ <sup>b</sup>	۱۸۷/۸ <sup>b</sup>	۱۱۰

(۱) a=معنی دار در سطح ۰/۰۵، b=معنی دار در سطح ۰/۰۱، c=معنی دار در سطح ۰/۰۰۱، d=معنی دار در سطح ۰/۰۰۰۱، ns=عدم وجود تفاوت معنی دار (در هر وارپته مقایسه بین تیمارهای شاهد و آلوده صورت گرفته است)

حساس دارای توان تولید بالا پیشنهاد می‌گردد. در سایر لاینها میتوان با اجرای برنامه‌های انتخاب و غربال‌گری ژنتیکی در نسل‌های متوالی مقاومت آنها را به ویروس افزایش داد. Rabindra و Sivapraksam با آزمایش روی ۳ لاین کرم ابریشم دونسلی گزارش کردند که یک لاین، افزایش معنی‌داری در ارزش LD<sub>۵۰</sub> از نسل دهم به بعد نشان داد (۱۳). در میان هیبریدها، Xinhang<sub>۱</sub>×Y، Xinhang<sub>۱</sub>×Koming<sub>۱</sub>، Xinhang<sub>۳</sub>×Koming<sub>۱</sub>، Xinhang<sub>۳</sub>×Koming<sub>۲</sub> و Xinhang<sub>۳</sub>×۳۱×۳۲ افت عملکرد کمتری را در محیط آلوده نشان دادند. بنا به گزارشات قبلی وارپته ۱۰۱۴۳۳ علی‌رغم تولید بالا دارای مقاومت ضعیفی می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد هیبرید حاصل از تلاقی لاین مذکور با وارپته‌های Koming<sub>۱</sub> و Koming<sub>۲</sub> از نظر خصوصیات مربوط به مقاومت در سطح بسیار بالایی قرار داشته و باید در برنامه‌های آتی اصلاح نژادی دارای اهمیت ویژه‌ای شمرده شود. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر مشخص ساخت تلقیح خوراکی غلظت LD<sub>۵۰</sub> از ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای میانگین صفات مقاومت را در لاین‌های خالص و نیز هیبریدها به میزان چشمگیری کاهش می‌دهد و قدرت بیماریزائی و کارآیی روش فوق در آلوده‌سازی لاروها بسیار بالا می‌باشد و به این ترتیب قدرت بیماریزائی و کارآیی دستورالعمل‌های در دسترس جهت خالص‌سازی و جداسازی ویروس پلی‌هیدروسیس‌هسته‌ای (۲، ۱۴) برای آلوده‌سازی وارپته‌های مختلف کرم ابریشم تایید می‌شود.

قشر پبله ظاهر می‌گردد. این مسئله نشان می‌دهد که اوج بیماریزایی ویروس در مرحله شفیرگی است که موجب کاهش کیفیت پبله و ابریشم استحصالی خواهد گردید. در نتیجه انتظار می‌رود خسارت وارده در نتیجه بروز این بیماری بر کارخانجات ابریشم‌کشی و مراکز تولید کننده تخم نوغان بیشتر از نوغانداران تولید کننده پبله باشد (۲). Singh و همکاران (۱۲) هم گزارشاتی مبنی بر وجود تفاوت در مقاومت هیبریدهای کرم ابریشم در شرایط طبیعی منتشر ساختند که نتایج تحقیق حاضر تایید کننده آن می‌باشد. همچنین از اینکه تفاوت درصد هتروزیس صفت تعداد لارو زنده در دو محیط شاهد و آلوده معنی‌دار نبوده، لیکن درصد هتروزیس برای صفات تعداد شفیره زنده و درصد ماندگاری شفیره در محیط آلوده معنی‌دار و بالاتر بود، میتوان چنین استنباط نمود که 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 شده است (۲، ۱۰). بنابراین انتظار می‌رود در شرایط تلنارهای روستایی و پرورش در محیط‌های نامساعد (نظیر پرورش پاییزه)، میزان مقاومت هیبریدها به دلیل تاثیر هتروتیک بالاتر، افزایش یابد. با توجه به بالا بودن مقاومت لاین Koming<sub>۱</sub>، استفاده از آن به عنوان یکی از پایه‌های والدینی به‌منظور تولید تخم نوغان آمیخته و نیز بهره‌برداری از لاین مذکور در برنامه‌های اصلاح نژادی به‌منظور انتقال ژن‌های مقاومت به لاین‌های

جدول ۶- میانگین صفات مقاومت در هیبریدها به تفکیک تیمارهای شاهد و آلوده<sup>(۱)</sup>

درصد ماندگاری شفیره		تعداد شفیره زنده		تعداد لارو زنده		واریته
تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	تیمار آلوده	تیمار شاهد	
۴۵/۳۷ <sup>a</sup>	۴۳/۷۲ <sup>a</sup>	۲/۹۲ <sup>a</sup>	۴/۱۵۴ <sup>a</sup>	۶/۲۰۱ <sup>ns</sup>	۲/۲۱۴ <sup>ns</sup>	Xinhang <sub>1</sub> × Koming <sub>1</sub>
۴۲/۳۵ <sup>b</sup>	۷۵/۰۹ <sup>b</sup>	۸۴/۴ <sup>b</sup>	۱۶۷/۴ <sup>b</sup>	۱۹۸/۲ <sup>a</sup>	۲۲۲/۲ <sup>a</sup>	Xinhang <sub>1</sub> × Koming <sub>2</sub>
۲۶/۴۷ <sup>a</sup>	۵۵/۷۹ <sup>a</sup>	۵۱/۴ <sup>ns</sup>	۹۸/۸ <sup>ns</sup>	۱۶۸/۶ <sup>ns</sup>	۱۸۳/۸ <sup>ns</sup>	Xinhang <sub>1</sub> × ۲
۷۰/۱۲ <sup>b</sup>	۹۳/۵۳ <sup>b</sup>	۱۲۷ <sup>b</sup>	۲۰۸/۴ <sup>b</sup>	۱۷۹/۴ <sup>a</sup>	۲۲۲/۸ <sup>a</sup>	Xinhang <sub>2</sub> × Koming <sub>1</sub>
۵۶/۰۲ <sup>b</sup>	۸۱/۴۳ <sup>b</sup>	۷۶/۴ <sup>c</sup>	۱۶۶/۴ <sup>c</sup>	۱۳۶ <sup>c</sup>	۲۰۳/۸ <sup>c</sup>	Xinhang <sub>2</sub> × Koming <sub>2</sub>
۲۲/۶۱ <sup>c</sup>	۸۶/۳۸ <sup>c</sup>	۳۳/۲۵ <sup>d</sup>	۱۹۱/۵ <sup>d</sup>	۱۴۹ <sup>a</sup>	۲۲۲ <sup>a</sup>	Xinhang <sub>2</sub> × ۲
۴۳/۷۷ <sup>a</sup>	۷۶/۷۸ <sup>a</sup>	۸۶ <sup>a</sup>	۱۷۱/۵ <sup>a</sup>	۱۹۴/۳۳ <sup>ns</sup>	۲۲۳ <sup>ns</sup>	Xinhang <sub>3</sub> × Koming <sub>1</sub>
۶۷/۰۳ <sup>ns</sup>	۸۲/۳۲ <sup>ns</sup>	۱۲۷/۴ <sup>ns</sup>	۱۸۳ <sup>ns</sup>	۱۹۰/۴ <sup>b</sup>	۲۱۹/۷۵ <sup>b</sup>	Xinhang <sub>3</sub> × Koming <sub>2</sub>
۳۱/۱۵ <sup>b</sup>	۷۷/۵۷ <sup>b</sup>	۵۴/۶ <sup>c</sup>	۱۷۳/۲ <sup>c</sup>	۱۸۰/۸ <sup>a</sup>	۲۲۱/۴ <sup>a</sup>	Xinhang <sub>3</sub> × ۲
۷۹/۹۴ <sup>a</sup>	۹۱/۸۹ <sup>a</sup>	۱۶۱/۴ <sup>b</sup>	۲۱۴/۶ <sup>b</sup>	۲۰۱/۴ <sup>b</sup>	۲۳۳/۶ <sup>b</sup>	۱۰۱۴۳۳ × Koming <sub>1</sub>
۸۴/۲۶ <sup>d</sup>	۹۵/۰۱ <sup>d</sup>	۱۶۹ <sup>a</sup>	۲۲۱/۴ <sup>a</sup>	۱۹۹/۸ <sup>ns</sup>	۲۳۳ <sup>ns</sup>	۱۰۱۴۳۳ × Koming <sub>2</sub>
۵۵/۱۵ <sup>b</sup>	۸۸/۶۴ <sup>b</sup>	۱۰۸ <sup>c</sup>	۲۰۴/۸ <sup>c</sup>	۱۹۳/۸ <sup>d</sup>	۲۳۰/۶ <sup>d</sup>	۱۰۱۴۳۳ × ۲
۳۱/۸۸ <sup>a</sup>	۵۶/۹۴ <sup>a</sup>	۶۴/۶ <sup>a</sup>	۱۲۴/۴ <sup>a</sup>	۲۰۱/۴ <sup>ns</sup>	۲۱۶/۴ <sup>ns</sup>	۱۳ × ۳۲
۵۳/۲۷ <sup>b</sup>	۸۲/۶۶ <sup>b</sup>	۸۹/۲ <sup>c</sup>	۱۸۲ <sup>c</sup>	۱۶۶/۲ <sup>b</sup>	۲۲۰/۲ <sup>b</sup>	۱۰۳ × ۱۰۴
۱۷/۶۸ <sup>d</sup>	۷۰/۵۱ <sup>d</sup>	۳۲/۸ <sup>c</sup>	۱۴۶/۴ <sup>c</sup>	۱۴۹/۴ <sup>ns</sup>	۲۰۶/۲ <sup>ns</sup>	۱۰۷ × ۱۱۰

(۱) a=معنی دار در سطح ۰/۰۵، b=معنی دار در سطح ۰/۰۱، c=معنی دار در سطح ۰/۰۰۱، d=معنی دار در سطح ۰/۰۰۰۱، ns=عدم وجود تفاوت معنی دار (در هر واریته مقایسه بین تیمارهای شاهد و آلوده صورت گرفته است)

2- ESCAP. 1993; Principles and techniques of silkworm breeding. New York, United Nations.

3- Kadono, O. K., Yamamoto, M., Higashino, Y., Taniai, K., Kato, Y., Chowdhury, S., Xu, J.H., Choi, S.K., Sugiyama, M., Xu, J.H., and Choi, S.K. 1995; Baculovirus-mediated production of the human growth hormone in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. Biochemical and Biophysical Research Communications 213 (2): 389-396.

4- Kato, H., Nakabo, M. and Ogiso, M. 1995; Detection of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus by PCR method. Research Bulletin of the Aichi Ken Agricultural Research Center 27: 273-277.

## سپاسگزاری

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور صورت گرفت. بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارشناسان و کارکنان این مرکز بویژه آقایان مهندس غلامی، موج پور، کامران، بیژن‌نیا، رحیمی و تجدد ابراز می‌دارند.

## منابع مورد استفاده

1- Bando, H., Hayakawa, T., Asano, S., Sahara, K., Nakagaki, M. and Iizuka, T. 1995; Analysis of the genetic information of a DNA segment of a new virus from silkworm. Archives of Virology 140 (6): 1147-1155.

