



Research Paper

Performance Comparison of Production and Longevity Traits in Commercial Lines of Iranian Silkworms under Cold Stress Conditions

Shivan Zamani¹, Jalal Jalali Sandi², Farjad Rafiei³ , Ramin Abdoli⁴ and Vahid Rahimi Alangi⁵

1- Ph.D. student, Department of Plant Medicine, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2- Professor, Department of Plant Medicine, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3- Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, (Corresponding author: farjad.rafeie@gmail.com)

4- Assistant Professor, Iran Silk Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Guilan, Rasht, Iran

5- Postdoctoral Researcher, Department of Plant Medicine, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 3 July, 2023

Accepted: 19 November, 2023

Extended Abstract

Background: One of the goals of new programs for silkworm breeding is to investigate the ability to withstand environmental fluctuations. Silkworms are cold-blooded organisms, meaning that their body temperature and metabolic processes are affected by the temperature of the environment. Silkworms are sensitive to temperature changes, and exposure to cold temperatures can affect their growth, development, and overall health. So far, no special attention has been paid to improving compatibility traits in Iranian silkworms. The requirement of this goal is to improve the traits related to resistance to stresses and adaptation to new conditions. Achieving this regard requires expanding the country's silkworm gene bank, especially in the field of commercial lines. New genetic resources should also be made available while identifying the genetic capabilities of the existing lines. In the meantime, producing eggs that are resistant to cold stress is one of the proposed solutions to deal with this stress. For this purpose, it is necessary to determine the level of resistance or susceptibility to cold stress in commercial lines used in the production of commercial eggs, and the desired lines should be rated from this aspect. With this rating, recommendations can be made to create crosses between the mentioned lines aiming at producing commercial eggs resistant or sensitive to cold stress and distributing each batch of these eggs in different geographical areas with different climates. In the present study, the performance of commercial lines of Iranian silkworms including 31, 32, 103, 104, 151, 153, and 154, under cold stress was investigated in control and challenge treatments.

Methods: After the steps of preparation for breeding, silkworm eggs were kept in a hatching room under standard temperature and humidity conditions for 12 days. The standard conditions for breeding were temperature (25 ± 2 °C), relative humidity ($75 \pm 5\%$), and photoperiod (16 hours light/ 8 hours dark). Mulberry leaves of modified varieties were used to feed the larvae. To induce cold stress, 300 larvae on the third day of the fifth instar (in the form of three replicates of 100 larvae) were incubated at 0 °C for 12 hours and then returned to the standard rearing conditions at 25 °C. The production traits the characteristics of cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell percentage, number of cocoons per liter, cocoon weight per liter, the average weight of a cocoon, the average weight of the best cocoon, the average weight of a middle cocoon, the average weight of a weak cocoon, and the average weight of a double cocoon, as well as some traits related to longevity, including the percentage of live larvae, the percentage of dead larvae, the percentage of pupal losses, and the percentage of produced butterflies, were investigated in each cold stress and control treatments. For statistical analysis, the generalized linear model (GLM) procedure was used in SAS software, and means were compared with Tukey's statistical test at a significant level of 0.05.

Results: In general, the highest and lowest values of traits were not the same among the genotypes and under applied stress conditions, but some genotypes showed higher performance for a larger number of traits. Among the studied traits, those related to cocoon weight, cocoon shell weight, and cocoon shell percentage are the most important traits for breeding purposes, which have high economic values and are used to improve cocoon performance. Meanwhile, the live and dead



larvae percentage traits, along with death pupae percentage and productive moth percentage, are important indicators related to viability, which showed significant differences between the studied lines. The results of mean comparisons showed that the larvae of the control group generally had better performance in all the examined traits than the larvae under cold stress, with a significant difference ($P < 0.001$). However, two lines 153 and 154 from the cold stress group had higher performance in many production and longevity traits than the other lines under cold stress and even some lines of the control group.

Conclusion: The temperature of the breeding environment is one of the factors that, in the case of fluctuation, leads to the deviation of breeding conditions from the optimal state and damage. In general, cold stress and low temperatures have different effects on insects, considering the intensity and duration of the insect's exposure. In addition, the stage of life, the evolution degree of adaptation mechanisms, and adaptation to the environment greatly affect the insect's response to cold stress. The results of the present research show that the performance of commercial lines of Iranian silkworms is affected under cold stress conditions, and lines 153 and 154 have higher resistance than the other lines. Hence, they can be prioritized in the production of commercial hybrids in terms of resistance to cold stress and production and survival records. Further studies are suggested to measure the molecular and biochemical characteristics of some proteins related to temperature stress in different treatments.

Keywords: Line, Hybrid, Silkworm, Cold Stress, Production Performance

How to Cite This Article: Zamani, SH., Jalali Sandi, J., Rafiei, F., Abdoli, R., & Rahimi Alangi, V. (2024). Performance Comparison of Production and Longevity Traits in Commercial Lines of Iranian Silkworms under Cold Stress Conditions. *Res Anim Prod*, 15(2), 53-68. DOI: 10.61186/rap.15.2.53

مقاله پژوهشی

مقایسه عملکرد صفات تولیدی و ماندگاری لاین‌های تجاری کرم ابریشم ایران در شرایط تنش سرمایی

شیوان زمانی^۱، جلال جلالی سندی^۲، فرجاد رفیعی^۳ ID، رامین عبدلی^۴، وحید رحیمی النگی^۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، (farjad.rafeie@gmail.com)

۴- استادیار، مرکز تحقیقات ابریشم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گیلان، رشت، ایران

۵- پژوهش‌گر پس‌دکتری، گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲۸

صفحه ۵۳ تا ۶۸

چکیده مسبوط

مقدمه و هدف: یکی از اهداف برنامه‌های نوین پرورش و اصلاح نژاد کرم ابریشم بررسی توانایی مقاومت در برابر نوسانات محیطی است. کرم‌های ابریشم موجوداتی خون سرد هستند، به این معنی که دمای بدن و فرآیندهای متابولیک آنها تحت تأثیر دمای محیط قرار می‌گیرد. کرم‌های ابریشم به تغییرات دما حساس هستند و قرار گرفتن در معرض دمای سرد می‌تواند بر رشد، نمو و سلامت کلی آنها تأثیر بگذارد. تاکنون توجه ویژه‌ای در زمینه‌ی اصلاح صفات سازگاری در کرم ابریشم‌های ایران صورت نگرفته است. لازمی این هدف، بهبود صفات مرتبط با مقاومت نسبت به تنش‌ها و سازگاری با شرایط جدید است. در همین این راستا، بانک ژن کرم ابریشم کشور به ویژه در بخش لاین‌های تجاری باید گسترش یافته و ضمن شناسایی قابلیت‌های ژنتیکی لاین‌های موجود، منابع ژنتیکی جدید نیز در دسترس قرار گیرند. در این بین، تولید تخم‌هایی که به تنش سرمایی مقاومت داشته باشند، یکی از راه کارهای پیشنهادی برای مقابله با این تنش است. بدین منظور لازم است که سطح مقاومت یا حساسیت به تنش سرمایی در لاین‌های تجاری مورد استفاده در تولید تخم‌های تجاری مشخص و لاین‌های مورد نظر از این جنبه رتبه‌بندی شوند. با داشتن این رتبه‌بندی، می‌توان توصیه‌هایی جهت ایجاد تلاقی بین لاین‌های مزبور با هدف تولید تخم‌های تجاری مقاوم یا حساس به تنش سرمایی و توزیع هر دسته از این تخم‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف با اقلیم‌های متفاوت ارائه نمود. در پژوهش حاضر، عملکرد ژنوتیپ‌های (لاین‌های) تجاری کرم ابریشم ایران شامل ۳۱، ۳۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۵۱، ۱۵۳ و ۱۵۴ در قالب تیمارهای شاهد و تحت چالش تنش سرمایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: بعد از مراحل آماده‌سازی پرورش، تخم نوغان‌ها در شرایط دمایی و رطوبتی استاندارد به مدت ۱۲ روز در اتاق تفریخ نگهداری شدند. برای پرورش، شرایط استاندارد ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵±۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. برای تغذیه لاروها، از برگ‌های درختان توت وارپته‌های اصلاح شده استفاده شد. برای القای تنش سرمایی، از هر ژنوتیپ ۳۰۰ لارو روز سوم در سن پنجم (در قالب ۳ تکرار ۱۰۰ لاروی) به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور با دمای صفر درجه سلسیوس قرار گرفتند و پس از آن به شرایط استاندارد پرورش با دمای ۲۵ درجه بازگردانده شدند. برای بررسی صفات تولیدی در هر یک از لاین‌های تیمار و شاهد، صفات وزن پيله، وزن قشر پيله، درصد قشر پيله، تعداد پيله در لیتر، وزن پيله در لیتر، میانگین‌های وزن یک پيله، یک پيله خوب، یک پيله متوسط، یک پيله ضعیف و یک پيله مضاعف و برخی صفات مرتبط با زنده‌مانی شامل درصد لاروهای زنده، درصد لاروهای مرده، درصد تلفات شفیری و درصد پروانه تولیدی مورد بررسی قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل آماری از رویه مدل‌های خطی تمییم یافته (GLM) در نرم‌افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون آماری توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

یافته‌ها: به طور کلی، بیشترین و کمترین مقادیر صفات در بین ژنوتیپ‌ها و تحت شرایط تنشی اعمال شده یکسان نبوده، اما برخی از ژنوتیپ‌ها برای تعداد بیشتری از صفات از عملکرد بالاتری برخوردار هستند. در میان صفات مورد بررسی، صفات مربوط به وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله مهم ترین صفات در اهداف اصلاحی هستند که دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و برای بهبود عملکرد پيله استفاده می‌شوند. در این بین، صفات درصد لاروهای زنده، درصد لاروهای مرده، درصد تلفات شفیری و درصد پروانه تولیدی به عنوان شاخص‌های مهم مرتبط با ماندگاری مطرح هستند و تفاوت معنی‌داری بین لاین‌های مورد بررسی نشان دادند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به طور کلی لاروهای گروه شاهد در تمامی صفات مورد بررسی عملکرد بهتری در مقایسه با لاروهای تحت تنش سرمایی داشتند و تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده شد ($P < 0.001$). اگرچه، دو لاین ۱۵۳ و ۱۵۴ از گروه تنش سرمایی در بسیاری از صفات تولیدی و مرتبط با ماندگاری عملکرد بالاتری نسبت به سایر لاین‌های تحت تنش سرمایی و حتی برخی لاین‌های گروه شاهد داشتند.

نتیجه‌گیری: دمای محیط پرورش، یکی از عواملی است که در صورت نوسان، منجر به دورشدن شرایط پرورش از وضعیت بهینه و بروز خسارت می‌گردد. به طور کلی در حشرات، تنش سرمایی و دماهای پایین با در نظر گرفتن شدت و مدت زمانی که حشره در معرض آن قرار می‌گیرد، تأثیرات متفاوتی داشته و علاوه بر این، مرحله‌ی زندگی و میزان تکامل سازوکارهای سازگاری و انطباق با محیط نیز تأثیر عمده‌ای بر پاسخ حشره به تنش سرمایی دارد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عملکرد لاین‌های تجاری کرم ابریشم ایران در شرایط تنش سرمایی تحت تأثیر قرار گرفته و لاین‌های ۱۵۳ و ۱۵۴ مقاومت بالاتری نسبت به سایر لاین‌های مورد بررسی دارند و می‌توانند در خط تولیدی هیبریدهای تجاری به لحاظ مقاومت به تنش سرمایی و آماده‌های تولیدی و زنده‌مانی در اولویت قرار گیرند. برای مطالعات بیشتر، پیشنهاد می‌شود ویژگی‌های مولکولی و بیوشیمیایی برخی پروتئین‌های مرتبط با تنش دمایی در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شود.

واژه‌های کلیدی: لاین، هیبرید، کرم ابریشم، تنش سرمایی، عملکرد تولیدی

مقدمه

مهم‌ترین عاملی است که ارتباط نزدیکی با اقلیم دارد. دمای مطلوب برای محدوده‌ی رشد حشرات، به طور متوسط بین ۱۰ تا ۳۵ درجه‌ی سلسیوس گزارش شده است (Danks, 2006).

دمای محیط یکی از مهم‌ترین عوامل غیرزیستی تأثیرگذار بر فعالیت و توزیع جغرافیایی جانداران از جمله حشرات است و

تحمل سرمایی بیشتر در این مرحله از رشد حشره است (Aryal & Jung, 2018).

دمای محیط پرورش یکی از عواملی است که در صورت نوسان، منجر به دور شدن شرایط پرورش از وضعیت بهینه و بروز خسارت می‌گردد. به طور کلی در حشرات، تنش سرمایی و درجه حرارت‌های پایین با در نظر گرفتن شدت و مدت زمانی که حشره در معرض آن قرار می‌گیرد، تأثیرات متفاوتی داشته و علاوه بر این، مرحله‌ی زندگی و میزان تکامل سازوکارهای سازگاری و انطباق با محیط نیز تأثیر عمده‌ای بر پاسخ حشره به تنش سرمایی دارد (Denlinger & Lee, 2010). با توجه به این که کرم ابریشم سال‌های طولانی (از حدود ۵۰۰۰ سال پیش) توسط انسان پرورش داده می‌شود، حساسیت زیادی به شرایط محیطی داشته و در صورت ناپایداری و عدم تعادل محیطی، با مشکلاتی نظیر آفت کمی و کیفی تولید و تلفات مواجه می‌گردد (Rahmathulla, 2012).

تاکنون توجه ویژه‌ای در زمینه‌ی مطالعه و اصلاح صفات سازگاری در کرم ابریشم‌های ایران صورت نگرفته است. لازمه‌ی این امر، بهبود صفات مرتبط با مقاومت نسبت به تنش‌ها و سازگاری با شرایط جدید است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی لاین‌های مختلف کرم ابریشم از لحاظ میزان تحمل سرمایی بود تا بتوان لاین‌هایی که از تحمل بالاتری در مقابل دماهای پایین برخوردارند، شناسایی و انتخاب نمود.

مواد و روش‌ها

هفت لاین (ژنوتیپ) مورد استفاده در خط تولید تجاری شامل لاین‌های چینی شکل (۳۲، ۱۰۴ و ۱۵۴) و لاین‌های ژاپنی شکل (۳۱، ۱۰۳، ۱۵۱ و ۱۵۳) در مرکز تحقیقات کرم ابریشم ایران (رشت، ایران) تحت شرایط استاندارد مورد پرورش قرار گرفتند. دمای بهینه شرایط استاندارد پرورشی بین ۲۵-۲۶ درجه سلسیوس بوده و رطوبت نسبی محیط نیز باید ۷۰-۸۰ درصد می‌باشد که در اتاقک‌های دارای سیستم تهویه و قابل کنترل به لحاظ دمایی و رطوبتی، با رعایت موازین بهداشتی و انجام ضدعفونی، و استفاده از ارقام توت اصلاح شده برای تغذیه لاروها صورت گرفت. از لاروهای سن پنجم سه روزه مربوط به هر کدام از لاین‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، ۳۰۰ لارو (در قالب سه تکرار، هر کدام با ۱۰۰ لارو) برای پرورش در شرایط استاندارد دمایی (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) به عنوان گروه شاهد و ۳۰۰ لارو (در قالب سه تکرار، هر کدام با ۱۰۰ لارو) برای القای تنش سرمایی (دمای صفر درجه سلسیوس) به عنوان گروه تیمار انتخاب شدند. لاروهای گروه تیمار، به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور با دمای صفر درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس از آن به شرایط محیطی استاندارد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس برگردانده شده و تا پایان دوره پرورش در شرایط استاندارد نگهداری شدند (Kang et al., 2016). پس از گذشت یک ساعت، تعداد لاروهای تلف شده در هر لاین شمارش و درصد تلفات ثبت شد. گروه شاهد، شامل لاروهایی بودند که در معرض دمای صفر درجه سلسیوس قرار نگرفته و در دمای استاندارد ۲۵ درجه سلسیوس پرورش داده شدند.

کرم ابریشم توت با نام علمی *Bombyx mori L.* یک حشره مهم اقتصادی است که هدف اصلی پرورش آن تولید نخ ابریشمی می‌باشد. پرورش کرم ابریشم برای تولید محصول با کیفیت و کمیت مطلوب، نیازمند فراهم آوردن شرایط محیطی مناسب دمایی (۲۵ درجه سلسیوس) و رطوبتی (۷۰ درصد) بوده که در صورت عدم برقراری شرایط مزبور با مشکلاتی همچون کاهش کمی و کیفی تولید و بروز بیماری‌ها مواجه خواهد شد (Wu & Chen, 1988).

اصلاح نژاد کرم ابریشم برای صفاتی نظیر مقاومت در برابر بیماری‌ها، تحمل شرایط نامساعد محیطی و حتی توانایی مصرف غذاهای غیراستاندارد می‌تواند به پایداری و ثبات تولید پيله کمک کند. این صفات، تحت تأثیر مؤلفه‌ی ژنتیکی بوده و می‌توان با کمک ابزار انتخاب، آنها را بهبود بخشید. یکی از اهداف اصلاحی که در برنامه‌های نوین برای حشرات صنعتی از جمله کرم ابریشم در نظر گرفته می‌شود، توانایی مقاومت در برابر نوسانات محیطی است. بر این اساس حتی می‌توان وارسته‌های جدیدی تولید کرد که مختص هر منطقه‌ی جغرافیایی و اقلیمی باشند (Hosseini Moghaddam et al., 2008). از این رو پیش‌بینی می‌شود که علی‌رغم موانع موجود، از جمله وجود همبستگی منفی بین کمیت و کیفیت تولید با مقاومت در برابر نوسانات محیطی در بیشتر لاین‌های در دسترس، بتوان با کمک ابزارهای اصلاحی یعنی انتخاب و آمیزش، وارسته‌هایی را تولید کرد که علاوه بر برخورداری از تولید مطلوب، سازگاری مناسبی نیز با شرایط نامساعد محیطی داشته باشند (Singh, 2010).

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در مورد مقاومت حشرات به سرما صورت گرفته است. برای نمونه در پژوهشی با بررسی سازگاری لاروهای بدون دیپوز و لاروهای در حال دیپوز شب‌پره‌ی هندی (*Plodia interpunctella*) در دمای ۱۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴ هفته، نشان داد که مرگ و میر در دمای منفی ۵ و منفی ۱۰ درجه‌ی سلسیوس در مقایسه با لاروهای غیر سازگار کاهش می‌یابد (Fields & Timlick, 2010). در مطالعه‌ی دیگر، آندرادیس و همکاران (Andreadis et al., 2011)، تحمل سرمایی را در لاروهای کرم ساقه‌خوار نیشکر (*Sesamia nonagrioides*) از جنبه‌های مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که این لاروها، تحمل سرمایی محدودی دارند، چرا که پس از قرار گرفتن طولانی مدت در معرض دمای صفر درجه‌ی سلسیوس، مرگ و میر آنها افزایش پیدا کرد. همچنین، آریال و جونگ (Aryal & Jung, 2018)، نقطه‌ی سوپرکولینگ (فوق سرد) و بقا را در مراحل مختلف رشدی پروانه‌ی بید سیب زمینی (*Phthorimaea operculella*) مطالعه کردند. نتایج نشان داد که نقطه‌ی سوپرکولینگ در محدوده دماهای منفی ۲۳/۸ (در مرحله‌ی تخم) تا منفی ۱۶/۸ درجه‌ی سلسیوس، متغیر است. علاوه بر این، قرارگیری مراحل مختلف رشدی حشره شامل لاروهای سن سوم، چهارم و پیش از دوران شفیرگی در معرض دمای پایین نشان داد که تنها مرحله‌ی پیش‌شفیرگی کاهش معنی‌داری را در نقطه‌ی سوپرکولینگ (از منفی ۲۰/۷۸ به منفی ۲۲/۳۷ درجه‌ی سلسیوس) نشان می‌دهد. این نتیجه بیان‌گر

متقابل ژنوتیپ × تنش برای تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار است. مقادیر ضریب تعیین (R^2) نیز برای صفات مورد بررسی حاکی از مناسب بودن مدل آماری جهت توجیه واریانس مشاهده شده در داده‌های آزمایشی است (جدول ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ (لاین)، اثر تنش سرمایی و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش برای ۱۴ صفت مورد بررسی به ترتیب در جداول ۲، ۳ و ۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس (جدول ۱) و ترتیبی بودن اثر متقابل معنی‌دار ژنوتیپ × تنش، مقایسه جداگانه سطوح اثر اصلی ژنوتیپ و اثر اصلی تنش مقذور نخواهد بود. بنابراین از انجام مقایسه بین ژنوتیپ‌ها (جدول ۲) و بین سطوح تنش سرمایی و شاهد (جدول ۳) صرف‌نظر شده و تنها میانگین‌های مرتبط با اثر متقابل ژنوتیپ × تنش مورد بحث و بررسی قرار گرفتند (جدول ۴).

نتایج عملکرد لاین‌های مورد بررسی برای ۱۴ صفت اندازه‌گیری شده تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد در جدول ۴ ارائه شده است. میانگین‌های مرتب شده ژنوتیپ‌ها برای هر صفت نیز در نمودارهای ۱ تا ۱۴ آورده شده‌اند. به‌طور کلی، بیشترین و کمترین مقادیر صفات در بین ژنوتیپ‌ها و تحت شرایط تنشی اعمال شده یکسان نبوده اما برخی از ژنوتیپ‌ها برای تعداد بیشتری از صفات از عملکرد بالاتری برخوردار هستند. در میان صفات مورد بررسی، صفات مربوط به وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله مهم‌ترین صفات در اهداف اصلاحی هستند که دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و برای بهبود عملکرد پيله استفاده می‌شوند. در این بین، صفات درصد لاروهای زنده، درصد لاروهای مرده، درصد تلفات شفیرگی و درصد پروانه تولیدی به‌عنوان شاخص‌های مهم مرتبط با ماندگاری مطرح هستند و تفاوت معنی‌داری بین لاین‌های مورد بررسی نشان دادند ($P < 0.001$).

پس از اتمام دوره پرورش و شروع مرحله تنیدن پيله از جایگاه‌های تنیدن پيله ساخته شده از کلهش (مابشی) جداگانه برای هر تکرار استفاده شد. پس از تکمیل مرحله لاروی به شفیرگی در داخل پيله‌ها (هفت روز از زمان شروع تنیدن پيله)، اقدام به جمع‌آوری و کرک‌زدایی پيله‌های هر تکرار شد.

برای بررسی صفات تولیدی در هر یک از لاین‌های تیمار و شاهد، تعدادی از صفات تولیدی شامل تعداد پيله در لیتر، وزن پيله در لیتر، میانگین وزن یک پيله، میانگین وزن یک پيله خوب، میانگین وزن یک پيله متوسط، میانگین وزن یک پيله ضعیف و میانگین وزن یک پيله مضاعف ثبت شدند. برای اندازه‌گیری اصلی‌ترین صفات اقتصادی و نیز برخی از صفات مرتبط با زنده‌مانی، تعداد ۳۵ پيله خوب در هر لاین و تیمار جدا شده و ابتدا صفات وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله در آنها ثبت گردیده و سپس تا مرحله تولید پروانه نگهداری شده و صفات درصد ماندگاری لاروی، درصد تولید پروانه نگهداری و درصد پروانه تولیدی نیز ثبت شدند.

پس از ذخیره داده‌ها در نرم‌افزار اکسل و محاسبه برخی پارامترهای مرتبط با صفات، برای تجزیه و تحلیل آماری از رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته (GLM) در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ استفاده شد (SAS, 2013). برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون آماری توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت. با جمع‌بندی نتایج حاصل، لاین‌های مورد استفاده در خط تولید هیبریدهای تجاری کرم ابریشم ایران، از نظر مقاومت یا حساسیت به تنش سرمایی و آماره‌های تولیدی و اقتصادی مورد مقایسه و رتبه‌بندی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تحلیل آماری: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس صفات مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهند که اثر تمامی منابع تغییرات شامل مدل، ژنوتیپ، تنش و اثر

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس صفات مورد بررسی

Table 1. Analysis of variance of the studied traits

میانگین وزن یک پيله مضاعف mean weigh of a double cocoon	میانگین وزن یک پيله ضعیف mean weight of a weak cocoon	میانگین وزن یک پيله متوسط mean weight of a middle cocoon	میانگین وزن یک پيله خوب mean weight of a best cocoon	میانگین وزن یک پيله mean weight of a cocoon	وزن پيله در یک لیتر weight of cocoon per liter	تعداد پيله در یک لیتر number of cocoon per liter	درصد لاروهای مرده death larvae (%)	درصد لاروهای زنده alive larvae (%)	منبع تغییرات Source of Variance
3136.8***	695.75***	1942.39**	2363.60**	1491.59**	43.03**	33.50**	31.29***	27.93***	Model
62142.6**	1239.31**	3206.15**	4123.60**	2415.13**	74.24**	40.66**	39.06***	35.08***	Genotype
14780.7**	907.35***	4800.45**	4763.43**	3815.31**	87.59**	96.00**	120.28**	105.08**	Stress
3346.63**	62.92***	202.29**	203.63***	180.77***	4.39**	15.92**	8.69***	7.92***	ژنوتیپ × تنش Genotype×Stres
0.999	0.997	0.999	0.999	0.999	0.992	0.990	0.986	0.988	R^2

* Significant at $P < 0.05$; ** Significant at $P < 0.01$; *** Significant at $P < 0.001$

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس صفات مورد بررسی (ادامه)

Table 1. Analysis of variance of the studied traits (continue)

درصد قشر پيله cocoon shell percentage	وزن قشر پيله cocoon shell weight	وزن پيله cocoon weight	درصد پروانه تولیدی productive moth (%)	درصد تلفات شفیره death pupae (%)	منبع تغییرات Source of variance
12.61***	30.78***	3402.73***	25.42***	25.41***	Model
4.35**	21.98**	5916.25***	31.97***	31.95***	ژنوتیپ Genotype
118.68***	248.20***	7033.37***	106.33***	106.32***	تنش Stress
4.21**	4.35**	284.10***	5.39**	5.39**	ژنوتیپ × تنش Genotype×Stress
0.984	0.985	0.999	0.984	0.984	R^2

* معنی‌داری در سطح ۰/۰۵، ** معنی‌داری در سطح ۰/۰۱، *** معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱

* Significant at $P<0.05$; ** Significant at $P<0.01$; *** Significant at $P<0.001$

جدول ۲- مقایسه میانگین سطوح اثر اصلی ژنوتیپ (لاین)

Table 2. Mean comparison of the main effect of the genotype (line) levels

ژنوتیپ genotype	درصد لاروهای زنده alive larvae (%)	درصد لاروهای مرده death larvae (%)	تعداد پیله در یک لیتر cocoons per liter	وزن پیله در یک لیتر weight of cocoons per liter	میانگین وزن یک پیله mean weight of a cocoon	میانگین وزن یک پیله ضعیف mean weight of a weak cocoon	میانگین وزن یک پیله متوسط mean weight of a middle cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a best cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a double cocoon	درصد تلفات شفیره death pupae (%)	درصد پروانه تولیدی productive moth (%)	وزن پیله cocoon weight	وزن قشر پیله cocoon shell weight	درصد قشر پیله cocoon shell percentage
31	63.00	37.00	111.667	138.481	1.237	1.271	1.167	1.271	1.271	44.48	55.53	1.273	0.270	21.16
32	60.67	39.33	100.833	104.503	1.200	1.255	1.152	1.255	1.200	78.61	21.39	1.256	0.279	22.20
103	67.50	32.50	117.833	130.104	1.217	1.223	1.136	1.223	1.217	45.76	54.25	1.223	0.242	19.75
104	50.67	49.33	107.000	107.744	1.151	1.192	1.098	1.192	1.151	54.83	45.17	1.192	0.262	21.80
151	79.50	20.50	105.500	148.866	1.368	1.382	1.286	1.382	1.368	27.56	72.44	1.383	0.272	19.56
153	98.00	2.00	97.833	131.902	1.444	1.454	1.356	1.454	1.444	22.09	77.91	1.454	0.306	20.96
154	77.17	21.33	114.833	120.145	1.494	1.588	1.395	1.588	1.494	57.16	42.84	1.587	0.340	22.47

جدول ۳- مقایسه میانگین سطوح اثر اصلی تنش

Table 3. Mean comparison of the main effect of the stress

وضعیت تنش status stress	درصد لاروهای زنده alive larvae (%)	درصد لاروهای مرده death larvae (%)	تعداد پیله در یک لیتر cocoons per liter	وزن پیله در یک لیتر weight of cocoons per liter	میانگین وزن یک پیله mean weight of a cocoon	میانگین وزن یک پیله ضعیف mean weight of a weak cocoon	میانگین وزن یک پیله متوسط mean weight of a middle cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a best cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a double cocoon	درصد تلفات شفیره death pupae (%)	درصد پروانه تولیدی productive moth (%)	وزن پیله cocoon weight	وزن قشر پیله cocoon shell weight	درصد قشر پیله cocoon shell percentage
شاهد Control	81.05	18.52	103.81	132.58	1.365	1.376	1.281	1.376	1.365	34.10	65.90	1.377	0.322	23.38
تنش سرمایی Cold Stress	60.81	39.19	112.90	119.34	1.238	1.277	1.172	1.277	1.238	60.32	39.68	1.277	0.241	18.88

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات برای سطوح اثر متقابل ژنوتیپ × تنش

Table 4. Least squares mean for genotype × stress interaction effect

اثر متقابل ژنوتیپ × تنش interaction effect (genotype × stress)	درصد لاروهای زنده alive larvae (%)	درصد لاروهای مرده death larvae (%)	تعداد پیله در یک لیتر cocoons per liter	وزن پیله در یک لیتر weight of cocoons per liter	میانگین وزن یک پیله ضعیف mean weight of a weak cocoon	میانگین وزن یک پیله متوسط mean weight of a middle cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a best cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a double cocoon	میانگین وزن یک پیله مضاعف mean weight of a double cocoon
شاهد × 31 31 × control	86.67 ^{ab}	13.33 ^{gh}	116.333 ^{bc}	151.930 ^a	1.297 ^f	1.167 ^e	1.271 ^f	1.167 ^e	1.297 ^f
تنش سرمایی × 31 31 × cold stress	39.33 ^{fg}	60.67 ^{ab}	107.000 ^{def}	125.032 ^{cde}	1.176 ^{gh}	1.256 ^{cd}	1.200 ^g	1.176 ^{gh}	1.176 ^{gh}
شاهد × 32 32 × control	67.50 ^{cd}	32.50 ^{de}	117.833 ^{hi}	109.357 ^{fg}	1.281 ^f	1.136 ^e	1.223 ^f	1.281 ^f	1.281 ^f
تنش سرمایی × 32 32 × cold stress	54.33 ^{efg}	45.67 ^{bc}	105.333 ^{defg}	99.650 ^g	1.120 ^{ij}	1.222 ^{bc}	1.222 ^{bc}	1.120 ^{ij}	1.120 ^{ij}
شاهد × 103 103 × control	77.33 ^{bcd}	22.67 ^{efg}	112.333 ^{cde}	137.206 ^{bc}	1.258 ^g	1.167 ^e	1.271 ^f	1.258 ^g	1.258 ^g
تنش سرمایی × 103 103 × cold stress	87.67 ^{ef}	12.33 ^{cd}	123.333 ^{ab}	123.002 ^{def}	1.177 ^h	1.191 ^j	1.177 ^h	1.177 ^h	1.177 ^h
شاهد × 104 104 × control	65.33 ^{de}	34.67 ^{cde}	104.333 ^{efgh}	112.534 ^g	1.288 ^f	1.098 ^e	1.223 ^f	1.288 ^f	1.288 ^f
تنش سرمایی × 104 104 × cold stress	36.00 ^g	64.00 ^a	109.667 ^{cdef}	102.955 ^{efg}	1.014 ⁱ	1.093 ^k	1.014 ⁱ	1.014 ⁱ	1.014 ⁱ
شاهد × 151 151 × control	85.67 ^{abc}	14.33 ^{gh}	97.666 ^{ghi}	151.365 ^a	1.400 ^d	1.411 ^d	1.400 ^d	1.400 ^d	1.400 ^d
تنش سرمایی × 151 151 × cold stress	73.33 ^{bcd}	26.67 ^{defg}	113.333 ^{dc}	146.366 ^{ab}	1.335 ^e	1.352 ^e	1.335 ^e	1.335 ^e	1.335 ^e
شاهد × 153 153 × control	98.67 ^a	1.33 ^h	93.000 ⁱ	135.412 ^{bcd}	1.485 ^b	1.386 ^b	1.485 ^b	1.485 ^b	1.485 ^b
تنش سرمایی × 153 153 × cold stress	97.33 ^a	2.67 ^h	102.667 ^{fgh}	128.393 ^{cd}	1.402 ^d	1.325 ^e	1.402 ^d	1.402 ^d	1.402 ^d
شاهد × 154 154 × control	86.67 ^{ab}	10.33 ^{gh}	106.667 ^{def}	130.277 ^{cd}	1.543 ^a	1.476 ^a	1.543 ^a	1.543 ^a	1.543 ^a
تنش سرمایی × 154 154 × cold stress	67.67 ^{bcd}	32.33 ^{cdef}	129.000 ^a	110.013 ^{fg}	1.445 ^c	1.314 ^c	1.445 ^c	1.445 ^c	1.445 ^c
SEM	3.69	3.53	1.733	2.646	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات برای سطوح اثر متقابل ژنوتیپ × تنش (ادامه)

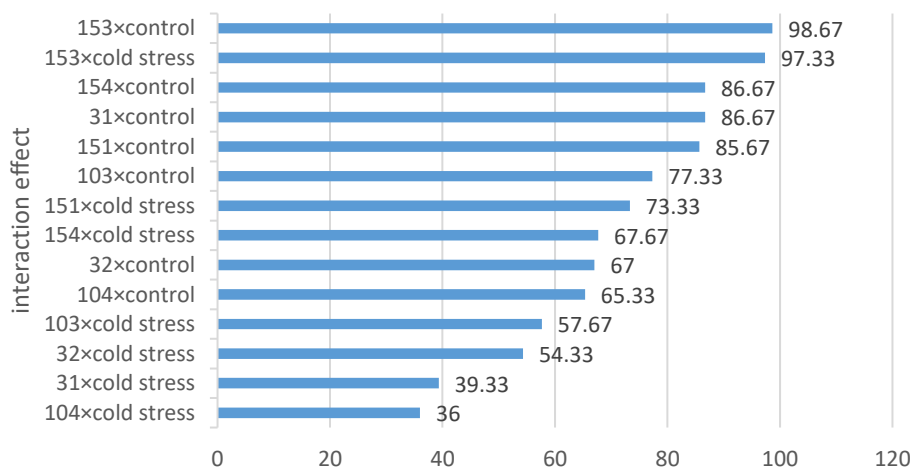
درصد قشر پيله cocoon shell percentage	وزن قشر پيله cocoon shell weight	وزن پيله cocoon weight	درصد پروانه توليدي productive moth (%)	درصد تلفات شيره death pupae (%)	اثر متقابل (ژنوتیپ × تنش) interaction effect (genotype×stress)
23.84 ^a	0.314 ^{bcd}	1.316 ^f	64.12 ^{abc}	38.88 ^{def}	شاهد × 31 31 × control
18.48 ^{cde}	0.227 ^{gh}	1.230 ⁱ	46.93 ^{cde}	53.07 ^{bcd}	تنش سرمايي × 31 31 × cold stress
23.51 ^{ab}	0.302 ^{def}	1.284 ^g	29.97 ^{ef}	70.03 ^{ab}	شاهد × 32 32 × control
20.88 ^{abcd}	0.256 ^{fgh}	1.227 ⁱ	12.81 ^f	87.19 ^a	تنش سرمايي × 32 32 × cold stress
21.84 ^{abc}	0.274 ^{defg}	1.256 ^h	62.22 ^{bc}	37.78 ^{de}	شاهد × 103 103 × control
17.65 ^{ed}	0.210 ^h	1.190 ^j	46.28 ^{cde}	53.75 ^{bcd}	تنش سرمايي × 103 103 × cold stress
23.80 ^{ab}	0.307 ^{bcd}	1.291 ^g	56.48 ^{bcd}	43.52 ^{cde}	شاهد × 104 104 × control
19.80 ^{bcd}	0.216 ^h	1.093 ^k	33.86 ^{def}	66.14 ^{abc}	تنش سرمايي × 104 104 × cold stress
23.57 ^{ab}	0.333 ^{abc}	1.411 ^d	87.06 ^a	12.94 ^f	شاهد × 151 151 × control
15.55 ^e	0.210 ^h	1.354 ^e	57.83 ^{bcd}	42.17 ^{cde}	تنش سرمايي × 151 151 × cold stress
23.54 ^{ab}	0.352 ^{ab}	1.498 ^b	88.55 ^a	11.45 ^f	شاهد × 153 153 × control
18.38 ^{cde}	0.260 ^{efgh}	1.411 ^d	67.27 ^{abc}	32.73 ^{def}	تنش سرمايي × 153 153 × cold stress
23.54 ^{ab}	0.372 ^a	1.158 ^a	12.78 ^{ab}	27.11 ^{ef}	شاهد × 154 154 × control
21.40 ^{abcd}	0.307 ^{bcd}	1.433 ^c	72.89 ^f	87.22 ^a	تنش سرمايي × 154 154 × cold stress
0.77	0.010	0.002	4.76	4.76	SEM

نشان دادند (جدول ۴). برای صفت درصد لاروهای زنده نیز رتبه‌بندی لاین‌ها تحت شرایط تنش سرمایی و طبیعی، در مقایسه با صفت درصد لاروهای زنده معکوس بود (شکل ۲). لاین‌های ۱۰۴ و ۳۱ از گروه تنش سرمایی بیشترین مقدار درصد لاروهای مرده را به‌خود اختصاص دادند (به‌ترتیب ۶۴ و ۶۷/۶۰ درصد) و کمترین مقادیر (به‌ترتیب ۱/۳۳ و ۲/۶۷ درصد) مربوط به لاین ۱۵۳ از گروه شاهد و تنش سرمایی بود (شکل ۲). نکته قابل توجه در این رابطه عملکرد بالاتر و بهتر لاین ۱۵۳ از گروه تنش سرمایی نسبت به سایر لاین‌ها از گروه تنش سرمایی و حتی سایر لاین‌ها از گروه شاهد بود (شکل ۱ و ۲).

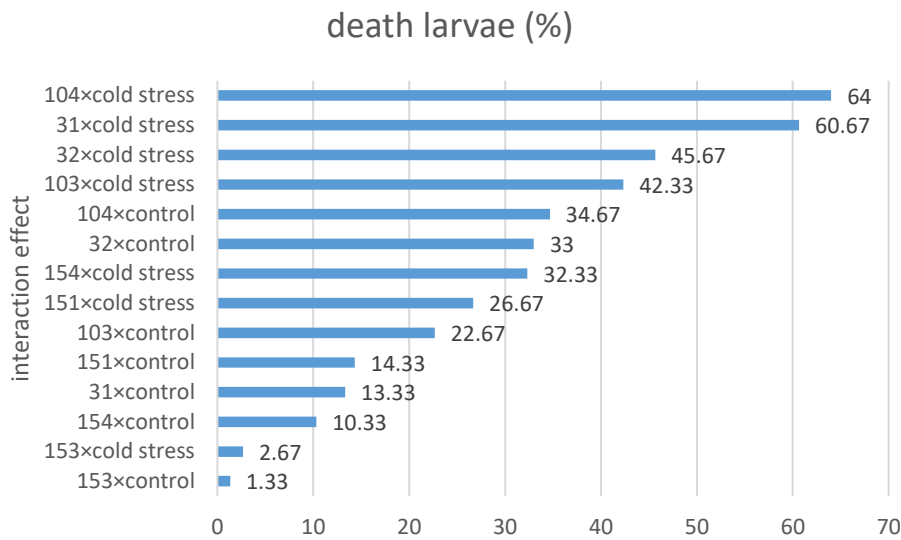
درصد لاروهای زنده و مرده

میانگین لاین‌های مختلف مورد بررسی تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد برای دو صفت درصد لاروهای زنده و مرده به‌ترتیب برابر با ۷۰/۹۲۸ و ۲۸/۸۵۷ بود. برای صفت درصد لاروهای زنده، لاین ۱۵۳ از گروه شاهد و تنش سرمایی بالاترین مقادیر را به‌خود اختصاص داد (به‌ترتیب ۹۸/۶۷ و ۳۹/۳۳ درصد) و کمترین مقادیر (به‌ترتیب ۳۶/۰۰ و ۳۹/۳۳ درصد) مربوط به لاین‌های ۱۰۴ و ۳۱ از گروه تنش سرمایی بود (شکل ۱). با این‌حال، تفاوت عملکرد لاین ۱۵۳ از گروه شاهد و تنش سرمایی با لاین‌های ۱۵۴، ۳۱، ۱۵۱ و ۱۰۳ از گروه شاهد معنی‌دار نبود، اما با سایر لاین‌ها تفاوت معنی‌دار

alive larvae (%)



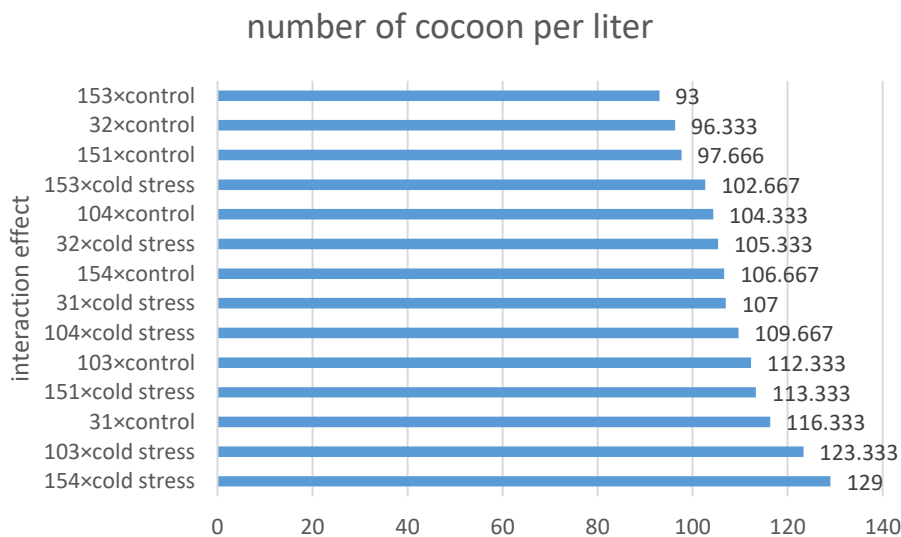
شکل ۱- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت درصد لاروهای زنده تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 1. Sorted averages of the lines for the percentage of live larvae under cold stress and control conditions



شکل ۲- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت درصد لاروهای مرده تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 2. Sorted averages of the lines for the percentage of dead larvae under cold stress and control conditions

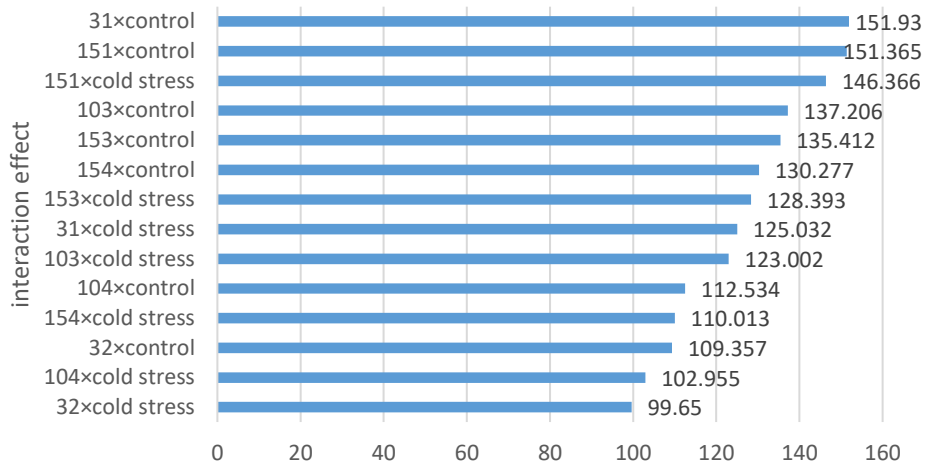
پيله‌ها می‌باشد و تفاوت معنی‌داری با سایر لاین‌ها داشت. میانگین‌های مرتب شده برای این صفت براساس مقدار اولویت از مقادیر پایین به بالا در لاین‌های مورد بررسی در نمودار ۳ ارائه شده است. برای صفت وزن پيله در لیتر نیز، میانگین کل تمامی لاین‌ها برابر با ۱۱۸/۷۴۹ گرم بوده و لاین‌های ۳۱ و ۱۵۱ از گروه شاهد به ترتیب با مقادیر ۱۵۱/۳۶۵ و ۱۵۱/۹۳ گرم تفاوت معنی‌داری با سایر لاین‌ها نشان دادند. لاین ۳۲ از گروه تنش سرمایی نیز دارای کمترین میانگین با مقدار ۹۹/۶۵ گرم بود (شکل ۴).

تعداد و وزن پيله در لیتر
میانگین کل صفت تعداد پيله در لیتر، ۱۰۸/۳۵۷ بود. با توجه به ماهیت این صفت که شاخصی برای تولید پيله‌های بزرگ‌تر است، مقادیر پایین‌تر این صفت مناسب‌تر بوده (هر قدر پيله‌های تولیدی بزرگ‌تر باشند، تعداد در یک لیتر کمتر خواهد بود) و لاین‌های ۱۵۳، ۳۲ و ۱۵۱ از گروه شاهد به ترتیب با میانگین تعداد ۹۳، ۹۶/۳۳ و ۹۷/۶۶ پيله در لیتر تفاوت معنی‌داری با سایر لاین‌ها نشان داده و دارای کمترین میانگین بودند (جدول ۴). بیشترین میانگین نیز مربوط به لاین ۱۵۴ از گروه تنش سرمایی با مقدار ۱۲۹ پيله در لیتر بود که نشان دهنده ریز بودن



شکل ۳- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت تعداد پيله در لیتر تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 3. Sorted averages of the lines for the number of cocoon per liter under cold stress and control conditions

weight of cocoon per liter

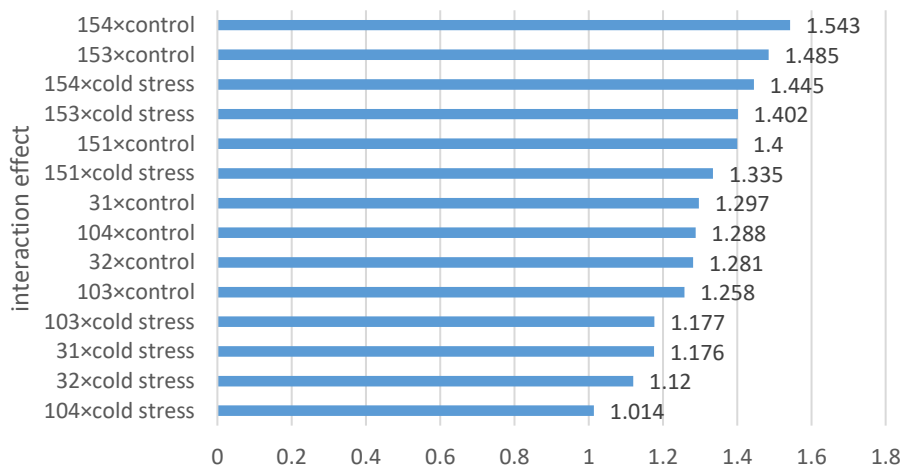


شکل ۴- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت وزن پيله در لیتر تحت شرایط تنش سرمایي و شاهد
Figure 4. Sorted averages of the lines for the weight of cocoon per liter under cold stress and control conditions

۱/۵۸۴ با بیشترین میانگین تفاوت معنی‌داری با سایر لاین‌های مورد بررسی داشته و لاین ۱۰۴ از گروه تنش سرمایي با مقدار ۱/۰۹۳ گرم دارای کمترین میانگین بود (جدول ۴). نتایج حاصل از این صفت تقریباً مشابه صفت میانگین وزن یک پيله بوده (شکل ۵) که این موضوع با توجه به ماهیت ارتباط بین دو صفت با یکدیگر قابل پیش‌بینی بوده است. میانگین‌های مرتب شده برای این صفات از مقادیر بالا به پایین در لاین‌های مورد بررسی در نمودارهای ۵ و ۶ ارائه شده است. نکته قابل توجه اینکه سه لاین ۱۵۴، ۱۵۳ و ۱۵۱ از گروه تنش سرمایي پس از گروه شاهد مربوط به خود بالاتر از سایر گروه‌های تنش سرمایي و شاهد قرار گرفتند که نشان دهنده عملکرد بالاتر آنها حتی در شرایط تنش سرمایي بود (شکل ۵، ۶).

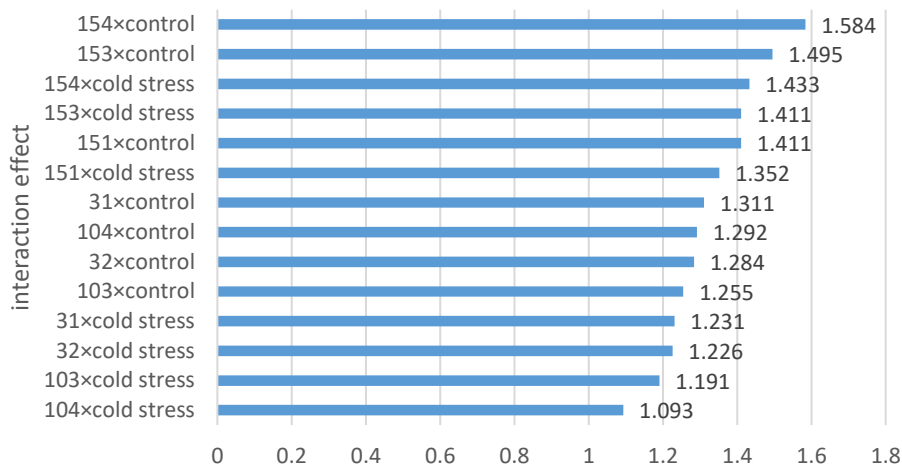
میانگین وزن یک پيله و میانگین وزن یک پيله خوب
میانگین کل صفت وزن یک پيله در تمامی لاین‌های مورد بررسی تحت شرایط تنش سرمایي و شاهد ۱/۳۰۱ گرم بود. لاین ۱۵۴ از گروه شاهد با مقدار ۱/۵۴۳ گرم، بیشترین مقدار تفاوت معنی‌داری را با سایر لاین‌ها نشان داد. لاین ۱۰۴ از گروه تنش سرمایي نیز دارای کمترین میانگین با مقدار ۱/۰۱۴ گرم بود (جدول ۲). وزن پيله شامل وزن سفیره، وزن قشر ابریشمی و وزن پوسته باقیمانده از دگردیسی لارو به سفیره است و به طور کلی میانگین حاصل از کلیه‌ی پيله‌های تولیدی شامل پيله‌های خوب، متوسط، ضعیف و مضاعف می‌باشد. میانگین کل صفت وزن یک پيله خوب نیز در تمامی لاین‌های مورد بررسی ۱/۳۲۶ گرم بود. لاین ۱۵۴ از گروه شاهد با مقدار

mean weight of a cocoon



شکل ۵- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت میانگین وزن یک پيله تحت شرایط تنش سرمایي و شاهد
Figure 5. Sorted averages of the lines for the mean weight of a cocoon under cold stress and control conditions

mean weight of a best cocoon

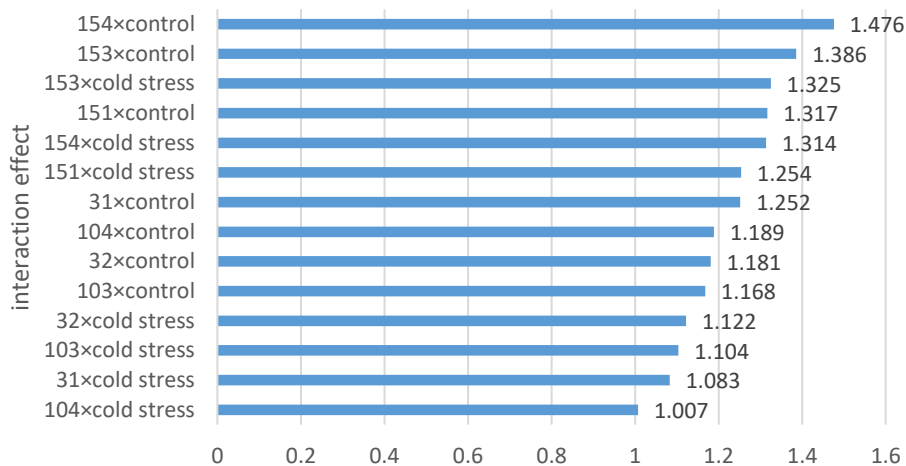


شکل ۶- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت میانگین وزن یک پیله خوب تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 6. Sorted averages of the lines for the mean weight of a best cocoon under cold stress and control conditions

از مقادیر بالا به پایین در لاین‌های مورد بررسی در نمودارهای ۷، ۸ و ۹ ارائه شده است. مشابه با صفات میانگین وزن یک پیله و میانگین وزن یک پیله خوب، سه لاین ۱۵۴، ۱۵۳ و ۱۵۱ از گروه تنش سرمایی برای هر سه صفت میانگین وزن یک پیله متوسط، ضعیف و مضاعف پس از گروه شاهد مربوط به خود بالاتر از سایر گروه‌های تنش سرمایی و شاهد قرار گرفتند که نشان دهنده عملکرد بالاتر آنها حتی در شرایط تنش سرمایی بود (شکل ۵، ۶).

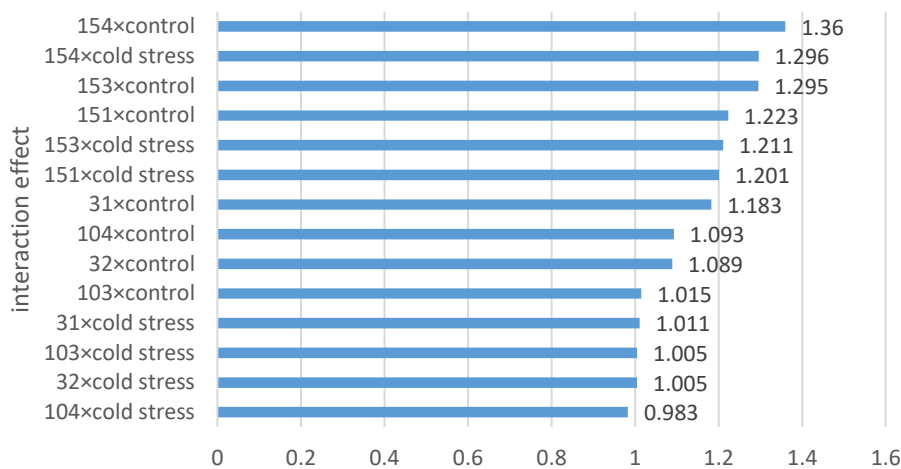
میانگین وزن یک پیله متوسط، ضعیف و مضاعف
همانطور که پیش از این اشاره شد، میانگین وزن یک پیله، شامل میانگین وزن پیله‌های خوب و تعداد کمتری از پیله‌های قابل دسته بندی به پیله‌های متوسط، ضعیف و مضاعف می‌باشد که در پایان دوران پرورش قابل مشاهده هستند و نتایج حاصل مشابه با مقادیر حاصل از میانگین وزن یک پیله خواهد بود. میانگین‌های کُلّی وزن پیله‌های متوسط، ضعیف و مضاعف در لاین‌های مورد بررسی به ترتیب ۱/۲۲۷، ۱/۱۴۰ و ۳/۰۳۶ گرم بود (جدول ۴). میانگین‌های مرتب شده برای این صفات

mean weight of a middle cocoon



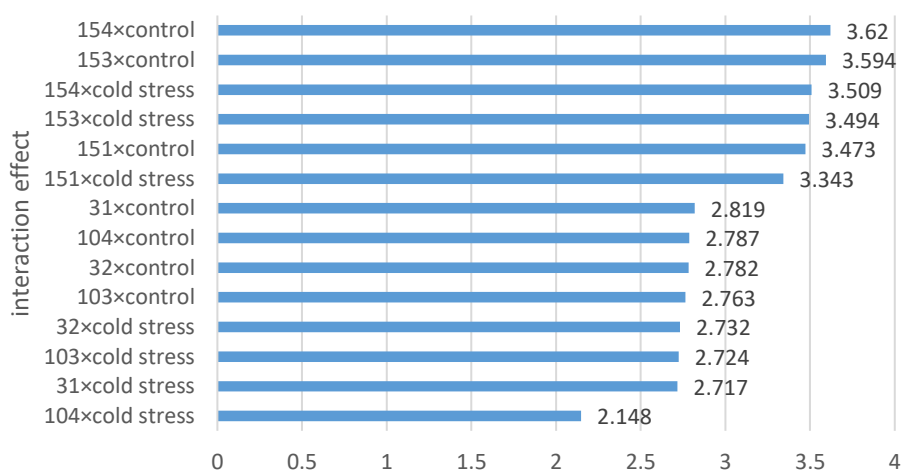
شکل ۷- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت میانگین وزن یک پیله متوسط تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 7. Sorted averages of the lines for the mean weight of a middle cocoon under cold stress and control conditions

mean weight of a weak cocoon



شکل ۸- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت میانگین وزن یک پیله ضعیف تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 8. Sorted averages of the lines for the mean weight of a weak cocoon under cold stress and control conditions

mean weight of a double cocoon

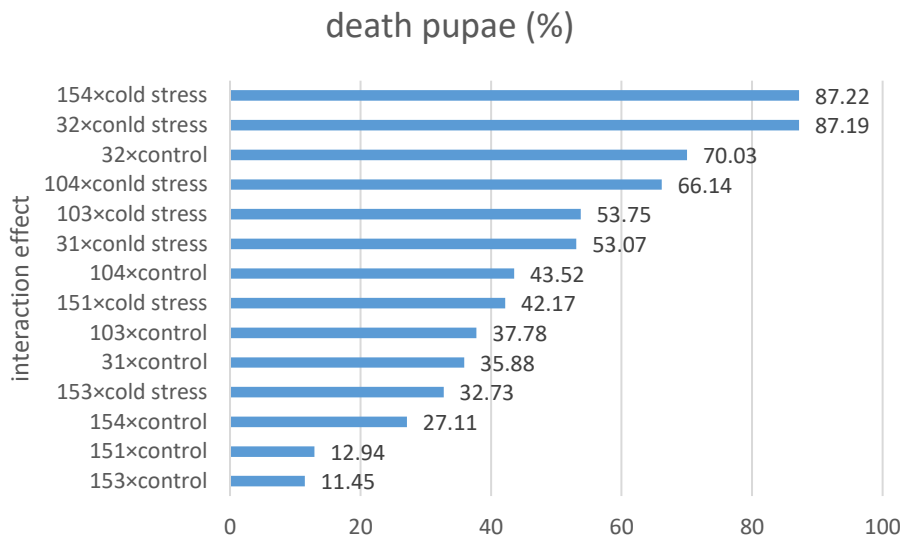


شکل ۹- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت میانگین وزن یک پیله مضاعف تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد
Figure 9. Sorted averages of the lines for the mean weight of a double cocoon under cold stress and control conditions

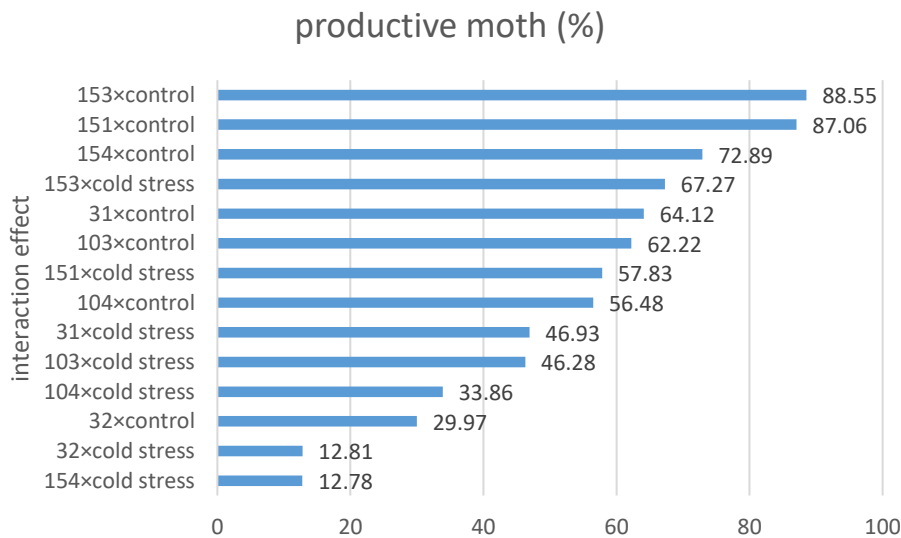
(شکل ۱۱). برای این صفت، میانگین کُل لاین‌ها ۵۲/۷۸ درصد بود. لاین‌های ۱۵۳ و ۱۵۱ از گروه شاهد به ترتیب با مقادیر ۸۸/۵۵ و ۸۷/۰۶ درصد بالاترین و پایین‌ترین لاین‌های ۱۵۴ و ۳۲ از گروه تنش سرمایی به ترتیب با ۱۲/۸۱ و ۱۲/۷۸ درصد کمترین میانگین‌ها را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). نکته قابل توجه اینکه لاین ۱۵۳ از گروه تنش سرمایی پس از گروه شاهد خود از درصد تلفات شفیرگی کمتر و درصد پروانه تولیدی بیشتر در مقایسه با سایر لاین‌ها از گروه تنش سرمایی و شاهد قرار گرفت که نشان دهنده‌ی عملکرد بالاتر این لاین حتی در شرایط تنش سرمایی بود (شکل ۱۰ و ۱۱).

درصد تلفات شفیرگی و درصد پروانه تولیدی

میانگین کُل صفت درصد تلفات شفیرگی به‌عنوان مهم‌ترین صفت مرتبط با ماندگاری، در تمامی لاین‌های مورد بررسی ۴۷/۲۱ درصد بود. لاین‌های ۱۵۴ و ۳۲ از گروه تنش سرمایی به ترتیب با مقادیر ۸۷/۲۲ و ۸۷/۱۹ درصد بالاترین میزان تلفات را به خود اختصاص دادند و تفاوت آنها با سایر لاین‌ها معنی‌دار بود. همچنین لاین‌های ۱۵۳ و ۱۵۱ از گروه شاهد به ترتیب با مقادیر ۱۱/۴۵ و ۱۲/۹۴ درصد کمترین میزان تلفات را داشتند (جدول ۴ و شکل ۱۰). برای صفت درصد پروانه تولیدی رتبه‌بندی لاین‌ها تحت شرایط تنش سرمایی و طبیعی، در مقایسه با صفت درصد تلفات شفیرگی روند معکوسی داشت



شکل ۱۰- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت درصد تلفات شفیرگی تحت شرایط تنش سرمای و شاهد
Figure 10. Sorted averages of the lines for the percentage dead pupae under cold stress and control conditions



شکل ۱۱- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت درصد پروانه تولیدی تحت شرایط تنش سرمای و شاهد
Figure 11. Sorted averages of the lines for the percentage of productive moth under cold stress and control conditions

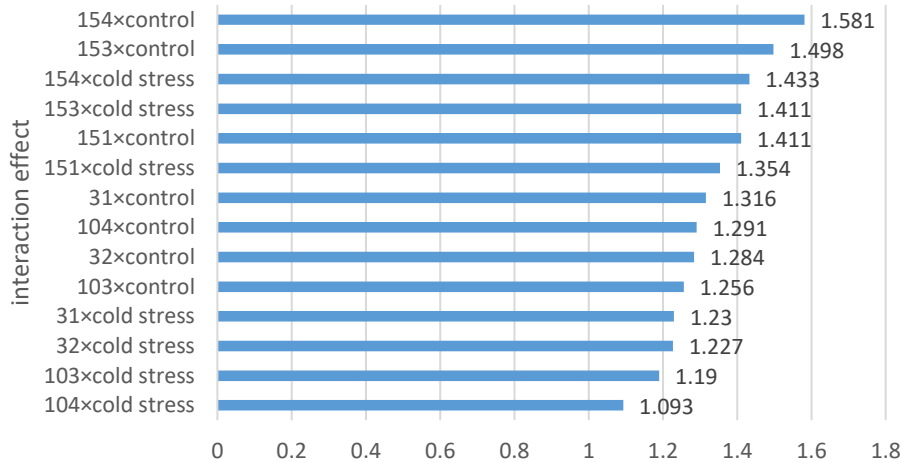
وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله مهم‌ترین صفات اقتصادی و تولیدی در اهداف اصلاحی پرورش کرم ابریشم بوده و برای بهبود عملکرد پيله استفاده می‌شوند. میانگین کلی حاصل از صفات وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله که براساس تعداد ۳۵ پيله خوب محاسبه شدند، به ترتیب ۱/۳۲۶ گرم، ۰/۲۸۱ گرم و ۲۱/۱۲ درصد بود (جدول ۴). همانطور که پیش از این اشاره شد، وزن پيله شامل وزن شفیره، وزن قشر ابریشمی و وزن بقایای حاصل از دگردیسی لارو به شفیره است. وزن قشر پيله تنها شامل رشته‌های ابریشمی بدون شفیره بوده و درصد قشر پيله نیز از نسبت قشر پيله به وزن کل پيله به دست آمده و به صورت درصد بیان می‌شود. برای صفت وزن

پيله دو لاین ۱۵۴ و ۱۵۳ از گروه شاهد به ترتیب با مقادیر ۱/۵۸۱، ۱/۴۹۸ گرم بیشترین عملکرد را از خود نشان داده و لاین ۱۰۴ از گروه تنش سرمای با مقدار ۱/۰۹۳ گرم کمترین میانگین را داشت (جدول ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفت وزن قشر پيله نیز نتایج مشابه با وزن پيله را نشان داده و دو لاین ۱۵۴ و ۱۵۳ از گروه شاهد با مقادیر ۰/۳۷۲ و ۰/۳۵۲ گرم دارای بالاترین میزان عملکرد و لاین‌های ۱۰۳، ۱۰۱ و ۱۰۴ از گروه تنش سرمای دارای کمترین میزان عملکرد بودند (جدول ۴). به طور کلی برای صفت درصد قشر پيله، تمامی لاین‌ها از گروه شاهد در مقایسه با لاین‌های گروه تنش سرمای عملکرد بالاتری داشتند. با این حال تفاوت بسیاری از آنها با یکدیگر معنی‌دار نبود (جدول ۴). میانگین‌های مرتب شده برای

تنش سرمایی بود (شکل ۱۲). برای صفت وزن قشر پيله، لاین ۱۵۴ از گروه تنش سرمایی عملکرد بالاتری در مقایسه با سایر لاین‌ها از گروه تنش سرمایی و سه لاین ۱۰۴، ۳۲ و ۱۰۳ از گروه شاهد داشت (شکل ۱۳). صفت درصد قشر پيله تنها صفتی بود که تمامی لاین‌ها از گروه شاهد عملکرد بالاتری نسبت به لاین‌ها از گروه تنش سرمایی داشتند (شکل ۱۴).

این صفات از مقادیر بالا به پایین در لاین‌های مورد بررسی در نمودارهای ۱۲، ۱۳ و ۱۴ ارائه شده است. مشابه سایر صفات بررسی شده مربوط به پيله، برای صفت وزن پيله، سه لاین ۱۵۴، ۱۵۳ و ۱۵۱ از گروه تنش سرمایی پس از گروه شاهد مربوط به خود بالاتر از سایر گروه‌های تنش سرمایی و شاهد قرار گرفتند که نشان دهنده عملکرد بالاتر آنها حتی در شرایط

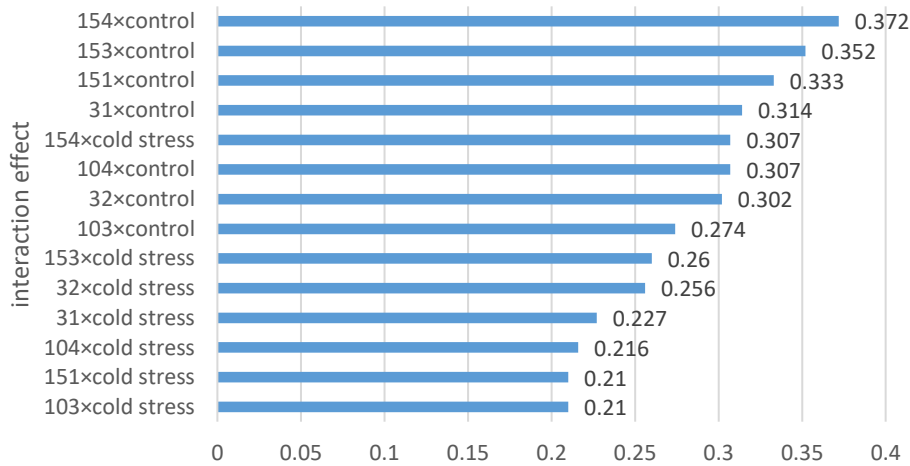
cocoon weight



شکل ۱۲- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت وزن پيله تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد

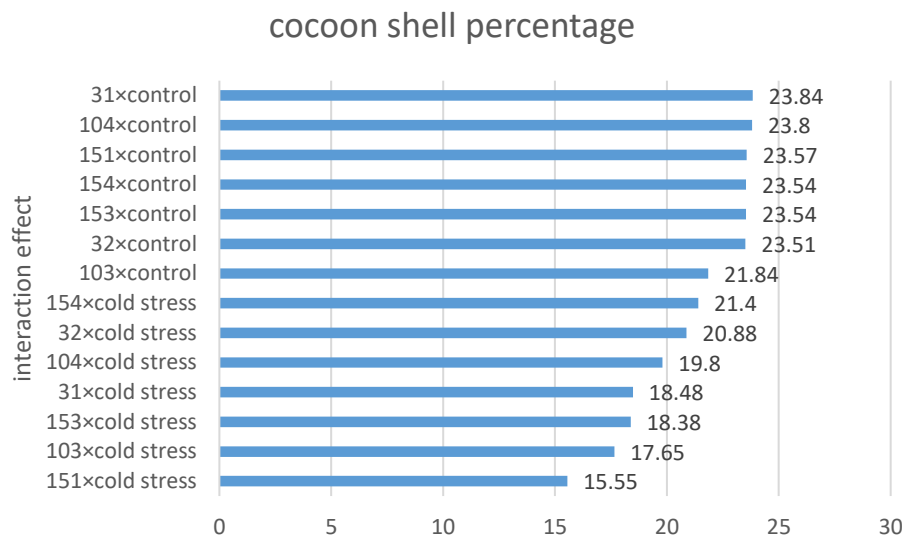
Figure 12. Sorted averages of the lines for the cocoon weight under cold stress and control conditions

cocoon shell weight



شکل ۱۳- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت وزن قشر پيله تحت شرایط تنش سرمایی و شاهد

Figure 13. Sorted averages of the lines for the cocoon shell weight under cold stress and control conditions



شکل ۱۴- میانگین‌های مرتب شده لاین‌ها برای صفت درصد قشر پيله تحت شرایط تنش سرمای و شاهد
Figure 14. Sorted averages of the lines for the cocoon shell percentage under cold stress and control conditions

عدم امکان رسیدگی به پرورش کرم ابریشم به دلیل اشتغال به سایر کارهای کشاورزی (نظیر زراعت برنج) در زمان‌های دیگر، توصیه به جابجایی زمان پرورش نیز منطقی به نظر نمی‌رسد، اگرچه در گذشته پرورش پاییزه کرم ابریشم در مناطقی از استان گیلان رواج داشته است.

پژوهش‌های گذشته اساس ژنتیکی تحمل حرارتی در کرم ابریشم را نشان داده‌اند (Kato et al., 2016; Pillai & Krishnaswami, 1980; Pillai & Krishnaswami, 1962; Ueda & Lizuka, 1987)، اما اطلاعات محدودی در رابطه با به‌کارگیری این جنبه‌ها از انتخاب ذخایر والدینی برای برنامه‌های اصلاحی وجود دارد. برخی مطالعات اولیه به انتخاب ژنوتیپ‌هایی از کرم ابریشم به لحاظ تحمل گرمایی با شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به گرما پرداخته‌اند (Shirota, 1992; Kumar et al., 2001). با این حال، ایجاد یک درک روشن و دقیق از مبنای ژنتیکی و تنوع موجود در بیان صفات ژنتیکی کمی و کیفی با قرار گرفتن در معرض دماهای بالا یا پایین، گام مهمی برای انتخاب منابع والدینی با قابلیت تحمل گرما یا سرما برای برنامه‌های اصلاحی است (Kunari et al., 2011). همان‌گونه که قبلاً نیز اشاره شد، از جمله اهداف اصلاحی در کرم ابریشم، ارتقای قابلیت‌های سازگاری و تداوم تولید در شرایط محیطی مختلف است. کرم ابریشم جاننداری خونسرد بوده و دما تأثیر مستقیمی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی مختلف آن دارد و لذا لازم است با تغییرات محیطی انطباقی یابد (Hosseini Moghaddam, 2009). به‌عنوان نمونه، در یکی از مطالعات صورت گرفته در این زمینه، تأثیر تغییرات دمایی بر رفتار تولیدمثلی، تخم‌گذاری و زنده‌مانی پروانه‌های کرم ابریشم مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان داده است که در دمای 40 ± 5 درجه سلسیوس تلفات بالایی در لاروها مشاهده می‌شود و پروانه‌های حاصل نیز قادر به تخم‌گذاری نیستند. در دمای 30 ± 1 درجه سلسیوس نیز کمترین تعداد تخم‌گذاری مشاهده شده در عرض ۷۲ ساعت تلف خواهند شد. همچنین در دمای

یکی از عوامل محیطی که در صورت بهینه نبودن، می‌تواند خسارت فراوانی به بار آورد، دمای محیط پرورش است. بالا یا پایین بودن بیش از حد دمای محیط و نوسان آن می‌تواند منجر به دور شدن شرایط پرورش از وضعیت بهینه شود. به‌همین دلیل مطالعات کرایوبیولوژی حشرات به دلیل کاربردهای بالقوه در کنترل آفات، مشارکت در درک روندهای تکاملی برای سازگاری با تنش‌های محیطی و نقش بالقوه آن در شناخت آثار تغییرات اقلیمی کره زمین پیشرفت‌های بسیار زیادی در سال‌های اخیر داشته است (Singh et al., 2013). کرم ابریشم نیز از حشرات صنعتی است که به دلیل زمان مناسب پرورش آن (اردیبهشت و خرداد هر سال) در معرض ناپایداری‌های جوی قرار دارد. به عنوان نمونه در استان گیلان که مهم‌ترین قطب پرورش کرم ابریشم در کشور محسوب می‌شود، داده‌های هواشناسی در فاصله‌ی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۰ نشان می‌دهند که در بازه‌ی زمانی مزبور، میانگین کمینه‌ی دمای هوای روزانه حدود ۱۰ درجه‌ی سلسیوس بوده که با دمای بهینه‌ی پرورش (۲۵ درجه سلسیوس) فاصله زیادی دارد. همچنین در بازه‌ی زمانی پرورش، میانگین کمینه‌ی دمای روزانه‌ی ۲۰ ساله (۱۰ درجه‌ی سلسیوس) با میانگین دمای روزانه‌ی ۲۰ ساله (۲۴ درجه‌ی سلسیوس) و نیز با بیشینه‌ی دمای روزانه ۲۰ ساله (۳۲ درجه‌ی سلسیوس) تفاوت فاحشی داشته و نشان‌دهنده‌ی آن است که لاروهای کرم ابریشم در این بازه‌ی زمانی، متحمل تنش و شوک سرمای شدیدی می‌شوند. این موضوع از آنجایی تشدید می‌شود که در اغلب مناطق از تلنبارهای مسقف ولی با دیواره‌های باز برای پرورش کرم ابریشم استفاده می‌گردد. از طرف دیگر آمار دقیقی از میزان تلفات ناشی از سرمازدگی در مزارع پرورش کرم ابریشم ارائه نگردیده و تنها می‌توان با مقایسه نتایج عملکرد حاصل از پرورش در شرایط دقیق و بسته (نظیر تلنبارهای پژوهشی مرکز تحقیقات ابریشم کشور) و تلنبارهای روستایی به تأثیر این عامل پی برد. همچنین با توجه به عدم دسترسی به برگ توت مناسب در سایر فصول و نیز

(Bizhannia et al., 2005)، که با نتایج حاصل از مطالعه برخی صفات تولیدی در لاین‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر شباهت دارد.

همچنین در پژوهشی دیگر تاثیر شرایط محیطی مختلف بر عملکرد برخی هیبریدهای حاصل از لاین‌های تجاری کرم ابریشم ایران مورد بررسی قرار گرفت (Mavvajpour et al., 2008). در این پژوهش تاثیر چهار محیط پرورش شامل الف) محیط استاندارد، ب) محیط با دما و رطوبت بالا، ج) محیط با دمای بالا و رطوبت پایین و د) محیط با نوسان درجه حرارت بر عملکرد شش هیبرید کرم ابریشم شامل ۱۵۱×۱۵۲، ۱۵۱×۱۱۰-۳۲، ۱۵۱×۱۱۰، ۱۵۱×۱۵۴، ۱۰۳×۱۰۴، ۱۰۳×۳۲ و ۱۰۷×۱۱۰ بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که هیبریدهای ۱۵۱×۱۵۲، ۱۵۱×۱۵۴ و ۱۰۷×۱۱۰ از تیمار شاهد (محیط استاندارد)، محیط با نوسان درجه حرارت و محیط با دمای بالا و رطوبت پایین از نظر درصد پیله درجه یک تفاوت معنی‌داری ندارند. همچنین گزارش گردید که در هیبرید ۱۵۱×۱۱۰-۳۲ تیمار شاهد و در هیبریدهای ۱۰۳×۱۰۴ و ۱۰۳×۳۲ تیمارهای شاهد (محیط استاندارد) و محیط با دمای بالا و رطوبت پایین منجر به تولید بیشتر پیله‌های خوب شدند. به‌طور کلی این پژوهشگران بیان کردند که دما و رطوبت بالا، دمای بالا و رطوبت پایین و نوسان درجه حرارت باعث کاهش سطح تولید می‌شوند (Mavvajpour et al., 2008).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه هفت لاین مورد استفاده در خط تولید هیبریدهای تجاری کرم ابریشم ایران، از نظر مقاومت یا حساسیت به تنش سرمایی و برخی آماره‌های مرتبط با صفات تولیدی و ماندگاری مورد مقایسه و رتبه‌بندی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که عملکرد لاین‌های مورد بررسی در شرایط تنش سرمایی تحت تاثیر قرار گرفته و لاین‌های ۱۵۳ و ۱۵۴ حتی در شرایط تنش سرمایی، مقاومت بالاتری نسبت به سایر لاین‌های مورد بررسی دارند و می‌توانند در خط تولیدی هیبریدهای تجاری حاصل از تلاقی لاین‌ها به لحاظ مقاومت به تنش سرمایی و صفات عملکردی در اولویت قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی به شماره ۱۲۴۶۴۶/پ۱۵ مورخ ۱۴۰۰/۱۰/۶ و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه گیلان و مرکز تحقیقات ابریشم کشور انجام شده است. از ریاست، کارشناسان، محققین و کارکنان محترم مرکز تحقیقات ابریشم کشور به جهت همکاری و تسهیل در اجرای پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

پایین 1 ± 10 درجه سلسیوس سازوکار دیپوز فعال شده و تاخیر در تخم‌گذاری مشاهده می‌شود (Wanule & Balkhande, 2013). با این حال اطلاعات محدودی در مورد سازگاری با سرما در حشرات از جمله کرم ابریشم در دسترس است (Singh et al., 2013).

تاکنون توجه ویژه‌ای در زمینه‌ی اصلاح صفات سازگاری در سویه‌های کرم ابریشم ایران صورت نگرفته است. لازمی این امر، بهبود صفات مرتبط با مقاومت نسبت به تنش‌ها و سازگاری با شرایط جدید است. در این راستا بایستی بانک ژن کرم ابریشم کشور به‌ویژه در بخش لاین‌های تجاری، گسترش یافته و ضمن شناسایی قابلیت‌های ژنتیکی لاین‌های موجود، منابع ژنتیکی جدید نیز در دسترس قرار گیرند. در این بین تولید تخم‌هایی که به تنش سرمایی مقاومت داشته باشند، یکی از راهکارهای پیشنهادی برای مقابله با این تنش است. بدین منظور لازم است که سطح مقاومت یا حساسیت به تنش سرمایی در لاین‌های تجاری مورد استفاده در تولید تخم‌های تجاری مشخص و لاین‌های مزبور از این جنبه رتبه‌بندی شوند. با داشتن این رتبه‌بندی می‌توان توصیه‌هایی جهت ایجاد تلاقی بین لاین‌های مزبور با هدف تولید تخم‌های تجاری مقاوم یا حساس به تنش سرمایی و توزیع هر دسته از این تخم‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف با اقلیم‌های متفاوت، به مرکز تحقیقات ابریشم کشور به‌عنوان تنها متولی امر پژوهش و اصلاح نژاد کرم ابریشم در کشور ارائه نمود.

در مطالعه دیگری اثرات زمان نگهداری لاروهای نوس پروانه کرم ابریشم در سرمای ۵ درجه سلسیوس بر برخی صفات اقتصادی کرم ابریشم، در قالب هفت تیمار شامل عدم تنش سرمایی (شاهد) و تنش سرمایی معادل ۴۸، ۹۶، ۱۴۴، ۱۹۲، ۲۶۴ و ۴۸۰ ساعت برای لاروهای نوس پروانه کرم ابریشم مورد بررسی قرار گرفت (Bizhannia et al., 2005). در این مطالعه لاروهای مربوط به هر تیمار پس از اعمال تنش سرمایی، تحت شرایط استاندارد و مطابق دستورالعمل‌های رایج پرورش داده شده و صفات اقتصادی آنها مورد بررسی و رکوردگیری قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش سرمایی بر اکثر صفات اقتصادی لاروهای تولید کننده‌ی ابریشم تاثیر معنی‌داری داشته است، به‌طوری‌که روی وزن لارو کامل، طول دوره‌های لاروی، پوست‌اندازی، تغذیه و تعداد کل پیله، تعداد پیله خوب و متوسط و وزن پیله، پیله پروانه نر و پیله پروانه ماده، پیله خوب، قشر پیله، قشر پیله پروانه ماده، قشر پیله پروانه نر، شفیره ماده، شفیره نر، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین این مطالعه نشان داد که در صفات درصد مرگ و میر لاروی، وزن پیله دویل (مضاعف)، تعداد پیله در لیترا، درصد قشر پیله ماده و درصد قشر پیله افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد ملاحظه نمی‌شود.

References

- Andreadis, S. S., Vryzas, Z., Papadopoulou-Mourkidou, E., & Savopoulou-Soultani, M. M. (2011). Cold tolerance of field-collected and laboratory reared larvae *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *CryoLetters*, 32, 297–307.
- Aryal, S., & Jung, C. (2018). Cold tolerance characteristics of Korean population of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Entomological Research*, 48(4), 300–307.

- Bizhannia, A. R., Seidavi, A. R., & Gholami, M. R. (2005). Cold shock response of newly hatched larvae on economical characters of silkworm (*Bombyx mori*). *Journal of Entomological Society of Iran*, 24(2), 81–97 (In Persian).
- Danks, H. V. (2006). Insect adaptations to cold and changing environments. *The Canadian Entomologist*, 138, 1–23.
- Denlinger, D. L., & Lee, R. E. (2010). Low temperature biology of insects. *Cambridge University Press*.
- Fields, P. G., & Timlick, B. (2010). The effects of diapause, cold acclimation and icenucleating bacteria on the cold-hardiness of *Plodia interpunctella*. In: Caryalho, M. O., Fields, P. G., Alder, C. S., Arthur, F. H., Athanassiou, C. G., Campbell, J. F., Fleurat-Lessard, F., Flinn, P. W., Hodges, R. J., Isikber, A. A., Navarro, S., Noyes, R. T., Riudavets Sinha, K. K., Thrope, G. R., Timlick, B. H., Trematerra, P., & White, N. D. G. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection, Estoril, Portugal*.
- Hosseini Moghaddam, S. H. (2009). Proteomic analysis of heat shock proteins related to thermal tolerance in the silkworm, *Bombyx mori*. *Ph.D Thesis, Zhejiang University, Hangzhou of China*.
- Hosseini Moghaddam, S. H., Du, X., Li, J., Cao, J., Zhong, B., & Chen, Y. Y. (2008). Proteome analysis on differentially expressed proteins of the fat body of two silkworm breeds, *Bombyx mori*, exposed to heat shock exposure. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(5), 624–631.
- Kang, M. U., Choi, K. H., Park, K. H., & Nho, S. K. (2016). Identification of the genes which related cold (low temperature) stress in *Bombyx mori*. *International Journal of Industrial Entomology*, 33(2), 102–107.
- Kato, M., Nagayasu, K., Ninagi, O., Hara, W., & Watanabe, A. (1989). Studies on resistance of the silkworm, *Bombyx mori L.* for high temperature. *Proceedings of the 6th International Congress of SABRAO (II)*, 953–956.
- Kumar, N. S., Yamamoto, T., Basavaraja, H. K., & Datta, R. K. (2001). Studies on the effect of high temperature on F1 hybrids between polyvoltines and bivoltine silkworm races of *Bombyx mori L.* *International Journal of Industrial Entomology*, 2, 123–127.
- Kumari, S. S., Subbarao, S. V., Misra, S., & Murty, U. S. (2011). Screening strains of the mulberry silkworm, *Bombyx mori*, for thermo tolerance. *Journal of Insect Science*, 11, 116.
- Mavvajpour, M., Mirhoseini, S. Z., Ghanipoor, M., & Seidavi, A. R. (2008). Effects of various environment conditions on the performance of silkworm (*Bombyx mori L.*). *Iranian Plant Protections Research*, 22(2), 35–45 (In Persian).
- Pillai, V. S., & Krishnaswami, S. (1980). Effect of high temperature on the survival rate, cocoon quality and fecundity of *Bombyx mori L.* *Sericulture Symposium and Seminar. Tamil Nadu Agriculture University*, 141–148.
- Pillai, V. S., & Krishnaswami, S. (1987). Adoptability of silkworm *Bombyx mori (L)* to tropical conditions: III. Studies on the effect of high temperature during later development stages of silkworm. *Indian Journal of Sericulture*, 26, 63–71.
- Rahmathulla, V. K. (2012). Management of climatic factors for successful silkworm (*Bombyx mori L.*) crop and higher silk production: a review. *Psyche: A Journal of Entomology*, 1, 1–12.
- SAS Institute Inc 2013. SAS/ACCESS® 9.4 Interface to ADABAS: Reference. *Cary, NC: SAS Institute Inc*.
- Shirota, T. (1992). Selection of healthy silkworm strain through high temperature rearing of fifth instar larvae. *Reports of the silk Science Research Institute*, 40, 33–40.
- Singh, A., Jaiswal, S. K., & Sharma, B. (2013). Low temperature induced stress and biomolecular imbalances in insects with special reference to silkworms. *Journal of Biochemistry Research*, 1(3): 36–35.
- Singh, T. (2010). Principles and Techniques of Silkworm Seed Production. *Discovery Publishing House*.
- Ueda, S., & Lizuka, H. (1962). Studies on the effects of rearing temperature affecting the health of silkworm larvae and upon the quality of cocoons-1 Effect of temperature in each instar. *Acta Sericologia Japan*, 41, 6–21.
- Wanule, D., & Balkhande, J. V. (2013). Effect of temperature on reproductive and egg laying behavior of silkworm *Bombyx Mori L.* *Bioscience Discovery*, 4(1), 15–19.
- Wu, P. C., & Chen, D. C. (1988). Silkworm Rearing, *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*.