

تأثیر غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین بر فراسنجه‌های بیولوژیکی و اقتصادی کرم ابریشم *Bombyx mori* L. در نطنز اصفهان

روح الله رجیبی^{۱*}، رحیم عبادی^۲، سید ضیال‌الدین میرحسینی^۳

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دزفول

۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

چکیده

تأثیر غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین بر فراسنجه‌های بیولوژیکی و شاخص‌های اقتصادی کرم ابریشم *Bombyx mori* L. در نطنز اصفهان مطالعه شد. تیمارهای آسپاراژین شامل غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/ml بود که در آن‌ها از آب مقطر به‌عنوان حلال استفاده شد. از برگ معمولی و تیمار آب مقطر نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. لاروهای کرم ابریشم روزانه در یک وعده از برگ‌های غنی‌سازی شده تغذیه کردند. همه فراسنجه‌های بیولوژیکی و اقتصادی به‌وسیله تکنیک‌های استاندارد در نوغانداری‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های بیولوژیکی و شاخص‌های اقتصادی در گروه‌های تیمار در مقایسه با شاهد‌ها نداشت. بر طبق نتایج این تحقیق، غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین نمی‌تواند تولید ابریشم را افزایش دهد. بنابراین جهت غنی‌سازی در غلظت‌های نامبرده در منطقه نطنز توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: کرم ابریشم، غنی‌سازی، فراسنجه‌های بیولوژیکی، شاخص‌های اقتصادی

مقدمه

کرم ابریشم *Bombyx mori* L. حشره‌ای است تک‌خوار که تمام احتیاجات تغذیه‌ای خود را از برگ توت تأمین می‌کند، اگرچه این حشره روی گیاهان دیگری چون *Cudrania tricuspidata* Carrière، *Maclura pomifera* (Rafin.)، *Lactuca sativa* Bailey، *Brousenetia kazinoki* Siebold-Kozo و *L. laciniata* (Kuntze.)Hard. می‌تواند تغذیه کند اما قادر به تکمیل چرخه زندگی خود با تغذیه روی آن‌ها نیست (Tazima, 2001). بخش اعظم زندگی کرم ابریشم که در آن تغذیه زیادی صورت می‌گیرد مرحله لاروی است و برگ توت تنها غذای مناسب کرم ابریشم بوده و کیفیت آن ارتباط نزدیکی با رشد سالم لارو و کیفیت پيله دارد. تولید پيله عمدتاً به ترکیب غذایی برگ توت وابسته است (Legay, 1958).

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: radjabi1360@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله (۸۷/۲/۳۱) - تاریخ پذیرش مقاله (۸۷/۶/۳)



خصوصیت برگ توت برای کرم ابریشم بر مبنای عواملی چون جذابیت، قابلیت جویدن و بلعیدن است و اگر یکی از این فاکتورها نامناسب باشد لاروها از خوردن امتناع می‌کنند (Horie & Watanabe, 1980). تیمار برگ‌های توت با ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی و ترکیبات دیگر با هدف افزایش عملکرد طی دو دهه اخیر در کشورهای در حال توسعه مورد توجه قرار گرفته است و توجه محققان بسیاری به آن جلب شده است (Kumararajet *et al.*, 1972; Sengupta *et al.*, 1972; Mosallanejad *et al.*, 2002). حدوداً ۶۰ درصد از محققان متمرکز روی این موضوع در هند و بقیه در بنگلادش، ایران، پاکستان و سایر کشورها می‌باشند. در مناطقی که الگوی نرمالی را در فراسنجه‌های اقتصادی دنبال می‌کنند غنی‌سازی برگ‌ها اثرات اقتصادی معنی‌داری نداشته است. برای مثال تولید ابریشم خام در هر هکتار زمین در ژاپن حدود ۵۲ کیلوگرم و در هند تنها ۱۴ کیلوگرم است (Etebari, 2002).

مطالعات مهمی روی برگ‌های توت تیمار شده با ترکیبات نیتروژن‌دار و اسیدهای آمینه و افزایش اثرات آن‌ها روی پرورش کرم ابریشم در ایران و جهان انجام شده و نتایج مختلفی به دست آمده است (Horie & Watanabe, 1983; Bajpeyi *et al.*, 1991; Kabila *et al.*, 1994; Khan & Saha, 1995; Krishnan *et al.*, 1995; Etebari, 2002). اسیدهای آمینه اعمال متابولیکی چندگانه‌ای در سلول‌های زنده دارند و تنوع در مقدار اسیدهای آمینه آزاد همولنف به‌طور معمول به‌وسیله رژیم غذایی کنترل می‌شود (Inocuchi, 1970). در گیاه میزبان کرم ابریشم نوع آبیاری و نوع خاک در سال‌ها و نواحی مختلف نوسانات بسیاری در مقدار اسیدآمینه برگ توت به‌وجود می‌آورد (Etebari, 2002). کرم ابریشم ۷۲ تا ۸۶ درصد اسیدهای آمینه را از برگ‌های توت به‌دست می‌آورد و در ماده‌ها بیش از ۶۰ درصد از این مقدار برای تولید ابریشم مصرف می‌شود (Lu & Jiang, 1988) لذا تغذیه از پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه به‌ویژه برای کرم ابریشم مهم است زیرا عمده فعالیت آن‌ها در ارتباط با تولید ابریشم است. اسید آمینه آسپاراژین یکی از اجزای مهم در بافت‌های موجودات زنده می‌باشد و یکی از ۲۰ اسیدآمینه‌ای است که در پروتئین‌های جانوری یافت می‌شود و همانند گلوتامین در متابولیسم آمونیاک سمی در بدن نیز موثر است. آسپاراژین اسیدآمینه غیرضروری برای کرم ابریشم است چون می‌تواند از اسید آسپاراتیک سنتز شود (Ito & Arai, 1966; 1967). برای تولید ابریشم، سطح بالای اسیدهای آمینه ضروری یا اسیدهای آمینه اسیدی مورد نیاز است. در حالی که سطح بالای اسیدهای آمینه غیرضروری بر تولید ابریشم تاثیر عکس دارد (Arai & Ito, 1967). نسبت فیبروین به سیرسین در قشر پيله به ترکیب اسیدآمینه موجود در جیره غذایی بستگی دارد. همچنین، تعادل کمی بین دو اسیدآمینه اسیدی و گروه اسیدهای آمینه غیر ضروری نیز در تغذیه لارو کرم ابریشم مهم است (Fukuda, 1959; Ito & Arai, 1967). این تحقیق اولین مطالعه روی تاثیر اسیدآمینه آسپاراژین روی فراسنجه‌های زیستی و شاخص‌های اقتصادی کرم ابریشم در ایران می‌باشد و نتایج آن می‌تواند در بهبود کیفیت ابریشم استحصال شده مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش کرم ابریشم

کرم ابریشم دو نسلی چینی-ژاپنی هیبرید ۳۱×۳۲ در مرکز نوغانداری نطنز تحت شرایط استاندارد ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شد (Lim *et al.*, 1990). برای تغذیه لاروها، از برگ‌های توت واریته کن موجی^۱ موجود در توتستان این مرکز استفاده شد.

1- Ken muchi

آماده سازی تیمارها

تیمارهای مورد نظر از ماده ال-آسپاراژین (ساخت شرکت مرک آلمان) شامل غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر محلول در آب مقطر استفاده شد. محلول‌های تهیه شده به صورت یکنواخت روی برگ‌های تازه توت پاشیده شد به صورتی که تمام سطح برگ تا حد امکان آغشته شود. سپس در مجاورت هوا تا زمان استفاده خشک و در اختیار لاروها قرار گرفتند. لاروها از ابتدای سن چهارم روزانه در سه نوبت تغذیه شدند. از ابتدای سن چهارم در نوبت ظهر با برگ‌های غنی شده و نوبت صبح و شب با برگ‌های معمولی مورد تغذیه قرار گرفتند. در تیمار شاهد از دو نوع برگ توت استفاده شد. نوع اول برگ‌های خیس‌انده شده در آب مقطر (شاهد آب مقطر) و نوع دوم از برگ‌های معمولی بدون خیس‌اندن در آب یا اسپری آب روی آن‌ها (شاهد معمولی). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد که هر تکرار شامل یک سینی پرورش حاوی ۱۵۰ عدد لارو بود.

وزن لاروی، وزن غدد ابریشم‌ساز و شاخص‌های اقتصادی

وزن لاروی: به منظور بررسی اثر تغذیه لاروی از برگ‌های غنی شده با مکمل‌های غذایی روی وزن لاروها، لاروها در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ سن پنجم با ترازوی دیجیتالی با دقت ± 0.01 گرم توزین شدند. بدین ترتیب که ۳۰ لارو به صورت تصادفی از هر تکرار وزن شد و میانگین آن به عنوان وزن آن سن لاروی محسوب گردید.

وزن غدد ابریشم‌ساز: جهت بررسی تاثیر غنی‌سازی در سنین ۴ و ۵ روی وزن غدد ابریشم‌ساز تعداد ۳ لارو کاملاً آماده تنیدن تار از هر تیمار انتخاب گردید و غدد ابریشم‌ساز آن‌ها جدا شد. بدین ترتیب که پس از بی‌حس شدن در سرمای یخچال توسط اسکالپل برش طولی در سطح پشت لاروهای سن آخر کرم ابریشم ایجاد شد و با پنس غدد ابریشم‌ساز آن خارج و در محلول کلرید سدیم (NaCl) ۰/۹ درصد قرار داده شد. وزن ۳ غده ابریشم‌ساز با ترازوی دیجیتالی با حساسیت ± 0.01 گرم محاسبه و میانگین آن به عنوان شاخص وزن غده ابریشم‌ساز ثبت شد (Tazima, 2001).

وزن پيله: یک هفته بعد از مابشی‌گذاری^۱ نسبت به برداشت و توزین وزن پيله اقدام شد. بدین ترتیب که پس از برداشت، پيله‌ها با تیغ شکافته شد تا شفیره‌های نر از ماده جدا شوند. جداسازی جنس‌ها با استفاده از علائم موجود در انتهای شکم شفیره صورت گرفت. پس از جداسازی پيله‌های نر و ماده ۳۰ پيله به طور تصادفی وزن شد و میانگین آن‌ها به عنوان شاخصی برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت (Lim et al., 1990).

وزن شفیره: پس از برش زدن پيله، شفیره‌ها بر حسب نر و ماده جدا شدند و ۳۰ شفیره از هر جنس با روشی مشابه پيله وزن شد.

وزن قشر پيله: با خارج کردن شفیره و پوسته شفیرگی آنچه می‌ماند قشر پيله است که جهت اندازه‌گیری ۳۰ قشر پيله توزین شد و میانگین آن به عنوان وزن قشر پيله نر یا ماده آن تیمار ارایه گردید.

درصد قشر پيله: درصد قشر پيله از رابطه ذیل محاسبه گردید (Joshi, 1985):

$$CSR\% = \frac{SW}{CW} \times 100$$

۱- مابشی‌گذاری در مرحله شفیرگی و به منظور تنیدن پيله صورت می‌گیرد که در استان گیلان از کلش برنج و در استان‌های دیگر از شانه تخم مرغ به عنوان مابشی برای تنیدن پيله استفاده می‌شود.

در این رابطه:

CSR= درصد قشر پیله

SW= وزن قشر پیله

CW= وزن پیله

نرخ موثر پرورش: نرخ موثر پرورش از تقسیم تعداد پیله‌های برداشت شده به تعداد لاروهای استفاده شده برای پرورش در آغاز آزمایش برای هر کدام از تیمارها به دست آمد (Joshi, 1985).

تجزیه آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با تکرارهای متعادل انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و نرم افزار آماری SAS استفاده شد (SAS institute, 1997).

نتایج و بحث

۱- تاثیر غنی‌سازی برگ توت بر وزن لاروی

بر طبق نتایج به دست آمده غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین در روز اول سن پنجم لاروی تاثیری بر وزن لاروها نداشت. اما در روز هفتم سن پنجم بیشترین میزان افزایش عددی وزن لاروی (۳/۷۲۵ گرم) در تیمار شاهد معمولی ثبت شد که تنها با وزن لاروی در تیمار ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر اختلاف معنی داری از خود نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- اثر غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین از سن چهارم روی وزن لاروی کرم ابریشم در سن پنجم

Table 1- The effect of mulberry leaves enrichment with Asparagine amino acid from beginning of 4th instar on larval weight during 5th instar

Treatments (mg/ml)	Larval weight during 5 th instar (g)			
	1 st day	3 rd day	5 th day	7 th day
10	1.129a	1.448b	2.653ab	2.805b
100	1.215a	1.731ab	2.491b	3.323ab
500	1.182a	1.700ab	2.785ab	3.126ab
1000	1.108a	1.736ab	2.643ab	3.638a
No treatment control	1.254a	1.961a	3.060a	3.725a
Distilled water control	1.187a	1.646ab	2.655ab	3.633a

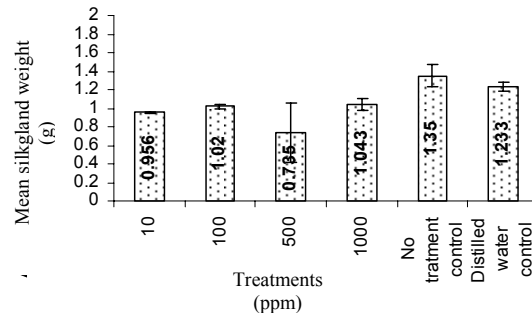
* Means with same letter(s) in each column are not significantly different at P>0.05

اثرات مثبت غنی‌سازی بر وزن لاروی در مطالعات بسیاری گزارش شده است (Bajpeyi *et al.*, 1991; Khan & Saha, 1995; Krishnan *et al.*, 1995; Sarkar *et al.*, 1995; Yasmin *et al.*, 1995; Zaman *et al.*, 1996; Etebari, 2002). طبق مطالعات انجام شده، پاشیدن محلول ۰/۵ درصد اوره روی برگ‌های توت در محیط پرورش وزن لاروهای کرم ابریشم ۱۱ درصد افزایش یافته است که این مقادیر در دو نژاد هندی مطالعه شده تقریباً ثابت بود. این موضوع می‌تواند بیانگر تاثیر مکمل مستقل از وارسته باشد (Sarkar *et al.*, 1995). گزارش شده که تیمار برگ‌های توت با اوره نه تنها

عملکرد بیولوژیکی حشره را افزایش نمی‌دهد بلکه حتی کاهش معنی‌داری در عملکرد نیز مشاهده می‌شود. اگر چه غلظت ۰/۱ درصد اوره می‌تواند وزن لاروهای تیمار شده را تا ۱۰/۶ درصد افزایش دهد اما تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های پيله به‌وجود نیاورده است (Etebari, 2002). کرم ابریشم از سن پنجم لاروی حدود ۶۵ درصد از نیتروژن جذب شده را برای تولید ابریشم به کار می‌برد، لذا مقدار نیتروژن حاضر در رژیم آن می‌تواند اثرات زیادی روی رشد لاروی و تولید پيله داشته باشد (Horie, 1995). عموماً راندمان جذب اسیدهای آمینه موجود در جیره‌های غذایی با افزایش سطح اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد. اما افزودن اضافی اسیدهای آمینه تا یک سطح معینی، موثر است. بهترین رشد لاروی با مخلوط ۲۰ درصد اسیدهای آمینه و بعد از آن در جیره‌های حاوی به ترتیب ۲۵، ۳۰، ۱۵ و ۱۰ درصد به‌دست می‌آید. با وجود این تولید ابریشم روی جیره‌های حاوی ۲۵ و ۳۰ درصد نسبت به ۲۰ درصد مخلوط اسیدآمینه بهتر است (Ito & Arai, 1967). این در حالی است که کاربرد اسیدآمینه آسپاراژین در این آزمایش نتایج مثبتی به همراه نداشت و افزایش لاروی نیز در تیمارها به دلیل تأثیرات منفی زیادی این اسیدآمینه مشاهده نشد.

۲- تأثیر غنی‌سازی برگ توت بر وزن غدد ابریشم‌ساز

نتایج این آزمایش در شکل ۱ ارایه شده است. میانگین وزن غدد ابریشم‌ساز در نتیجه تغذیه لاروها از برگ‌های غنی شده با اسیدآمینه ال-آسپاراژین کاهش یافت.



شکل ۱- تأثیر تغذیه لاروها از برگ‌های غنی‌سازی شده با آسپاراژین روی وزن غدد ابریشم‌ساز کرم ابریشم *Bombyx mori*

Fig. 1- The effect of larval feeding on mulberry leaves enriched with Asparagine on silkglands of silkworm *Bombyx mori*

اثرات مثبت غنی‌سازی برگ توت با مکمل‌های غذایی روی وزن غدد ابریشم‌ساز توسط محققان بسیاری مطالعه شده است و اکثر آن‌ها پی برده‌اند که افزایش وزن غدد ابریشم‌ساز ناشی از افزایش وزن لاروهاست (Bajpeyi *et al.*, 1991; Sarkar *et al.*, 1995; Mosallanejad *et al.*, 2002). لاروهای سنگین‌تر پيله‌های سنگین‌تری تولید می‌کنند که این امر مستقیماً بر تولید قشر پيله تأثیرگذار است، زیرا این غدد در سن پنجم لاروی بخش اعظم وزن لارو را به خود اختصاص می‌دهند (Horie & Watanabe, 1980). برای مثال فیلیبن^۱ ۳ درصد باعث افزایش ۲۷ درصدی وزن لاروی و ۱۰/۸ درصدی وزن غدد ابریشم‌ساز شده است (Muniandy *et al.*, 1995). مصرف آلانین و گلیسین ۰/۵ درصد بیش از ۱۴ درصد افزایش وزن در لاروهای سن پنجم را باعث شد (Sarkar *et al.*, 1995). تیمار لاروها با گلیسین ۰/۵ درصد اگر از شروع سن پنجم

1- Filibon

انجام شود می‌تواند سبب افزایش وزن حداکثر ۱۲/۳ درصد شود (Etebari, 2002). غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین کاهش وزن غدد ابریشم‌ساز را در تمامی تیمارها در مقایسه با شاهد معمولی و شاهد آب مقطر به دنبال داشت که این امر نتیجه کاهش وزن لاروی بوده است (جدول ۱). بنابراین اثرات منفی غنی‌سازی برگ توت با برخی مکمل‌های غذایی نیز توسط برخی از محققان گزارش شده است (Etebari, 2002). برای مثال تیمار برگ‌ها با آلانین ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ویژگی‌های بیولوژیکی را کاهش می‌دهد (Khan & Saha, 1995). در مکمل آسپاراژین بیشترین وزن لاروی به تیمار شاهد معمولی متعلق بود که با نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های اقتصادی که در آن‌ها تیمار آسپاراژین بالاترین وزن پيله و شفیره را دارا بودند، منطبق می‌باشد. با توجه به نتایج اخیر از آنجایی که میزان تولید ابریشم با وزن غدد ابریشم‌ساز در انتهای دوره لاروی رابطه دارد، کاهش ثبت شده در گروه‌های تیمار شده با مکمل‌های غذایی در بخش شاخص‌های اقتصادی قابل انتظار می‌باشد. افزایش وزن لاروی افزایش وزن غدد ابریشم‌ساز و کاهش وزن لاروی کاهش این اندام را به دنبال دارد اما این امر همیشه و برای تمامی مکمل‌ها صادق نیست. به عنوان مثال تیمار دهانی لاروهای کرم ابریشم با کلرید روی با غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اگرچه باعث افزایش ۷ درصدی وزن لاروی می‌شود اما وزن غدد ابریشم‌ساز با کاهش ۰/۸ درصدی همراه بوده است (Hugar & Kaliwal, 1999). علت این دو مسئله را می‌توان به نقش متفاوت این دو مکمل غذایی و دخالت آن‌ها در سنتز و متابولیسم پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در غدد ابریشم‌ساز مرتبط دانست (Legay, 1958). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان دریافت که کاربرد مکمل غذایی آسپاراژین در نظنز اصفهان نه تنها سبب افزایش وزن غدد ابریشم‌ساز نگردید بلکه با کاهش وزن این اندام می‌تواند به کاهش شاخص‌های اقتصادی منجر گردد.

۳- تاثیر غنی‌سازی برگ توت بر شاخص‌های اقتصادی

بر طبق داده‌های ارایه شده در جدول ۲ حداکثر وزن پيله ماده در شاهد معمولی (۱/۷۱۶ گرم) تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. وزن شفیره ماده نیز از الگوی وزن پيله تبعیت کرد و حداکثر مقدار وزن پيله ماده (۱/۳۴۲ گرم) در شاهد معمولی با تیمارها و شاهد آب مقطر تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد. شاهد آب مقطر در مقایسه با شاهد معمولی و تیمارها بیشترین میزان درصد قشر پيله ماده را دارا بود، اگر چه بین آن‌ها و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری دیده نشد. وزن پيله نر با افزایش غلظت آسپاراژین افزایش یافت اما در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مجدداً با کاهش مواجه شد. شاهد معمولی دارای بیشترین وزن پيله نر (۱/۴۱۷ گرم) بود و با تمامی تیمارها و شاهد آب مقطر تفاوت معنی‌داری داشت. حداکثر وزن شفیره (۱/۰۴۳ گرم) و وزن قشر پيله (۰/۳۷۴ گرم) در شاهد معمولی ثبت شد. پس از روند صعودی وزن شفیره و وزن قشر پيله نر تا تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کاهش این صفت‌ها در این تیمار مشاهده شد. غنی‌سازی برگ توت از سن چهارم جهت تغذیه لاروهای کرم ابریشم تاثیر معنی‌داری روی درصد قشر پيله نر نداشت.

جدول ۲- اثر غنی سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین بر شاخص های اقتصادی کرم ابریشم

Table 2- The effect of mulberry leaves enriched with Asparagine amino acid on economic characteristics of silkworm

Treatments (mg/ml)	Male				Female			
	Cocoon weight (g)	Pupa weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Shell percentage (%)	Cocoon weight (g)	Pupa weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Shell percentage (%)
10	1.158d	0.864d	0.294c	25.37a	1.372c	1.088c	0.283b	20.66a
100	1.270c	0.937c	0.322b	26.19a	1.546b	1.218b	0.327ab	21.15a
500	1.341b	0.990b	0.351ab	26.20a	1.512b	1.205b	0.306b	20.25a
1000	1.303bc	0.960bc	0.343ab	26.31a	1.583b	1.252b	0.331ab	20.91a
No treatment control	1.417a	1.043a	0.374a	26.41a	1.716a	1.342a	0.374a	21.81a
Distilled water control	1.284bc	0.938c	0.345ab	26.88a	1.542b	1.202b	0.340ab	22.02a

* Means with same letter(s) in each column are not significantly different at $P>0.05$

انتظار می رفت غنی سازی برگ های توت با اسید آمینه آسپاراژین بتواند کارایی برداشت پیله را در کرم ابریشم افزایش دهد زیرا این اسید آمینه به همراه لوسین، ایزولوسین، متیونین سولفوکساید و والین از اسیدهای آمینه مهم تشکیل دهنده قشر ابریشمی پیله شفیرگی لاروهایی است که روی برگ توت و نه رژیم غذایی مصنوعی پرورش می یابند (Yamada *et al.*, 1983). بر اساس مطالعات انجام شده لاروهایی که با نیتروژن ۰/۲ درصد تغذیه می شوند وزن قشر پیله به ۰/۲۳۶ گرم می رسد که در مقایسه با شاهد افزایش وزن ۰/۵۲ درصد را نشان می دهد و وقتی که لاروها روی برگ های تیمار شده با نیتروژن ۰/۲ درصد و منیزیم ۰/۱۵ درصد تغذیه کنند وزن قشر پیله به ۰/۳۰۱ گرم می رسد (Zaman *et al.*, 1996). همچنین افزودن اسید آسپاراتیک با غلظت ۱ و ۲ درصد به برگ ها، شاخص های اقتصادی کرم ابریشم را افزایش می دهد (Khan & Saha, 1995). اما نمی توان انتظار داشت که همیشه ارتباط مثبتی بین کاربرد اسید آمینه و شاخص های اقتصادی وجود داشته باشد. چنانچه نتایج این تحقیق نیز حاکی از عدم کارایی این اسید آمینه در افزایش تولید پیله می باشد (جدول ۲).

۴- تاثیر غنی سازی برگ توت بر عملکرد تولید مثلی

نتایج این آزمون در جدول ۳ ارائه شده است. مقایسه آماری میانگین وزن ۵۰ تخم، تفاوت معنی داری در تیمارها و شاهد نشان نمی دهد. الگوی منظمی بین تیمارها از نظر میانگین تعداد تخم و درصد تفریخ مشاهده نشد و مطلب قابل ذکر کاهش این پارامترها در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در میان تیمارها و افزایش آن ها در شاهد آب مقطر بین تیمارها و شاهد ها می باشد.

جدول ۳- نتایج غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین بر میانگین تعداد، وزن و درصد تفریح تخم کرم ابریشم

Table 3- The effect of mulberry leaves enriched with Asparagine amino acid on mean egg's number, weight and hatchability of silkworm

Treatments (mg/ml)	Average of egg no. for each female	Average of weight of 50 eggs from each female (g)	Hatchability (%)
10	517.33ab	0.026a	95.66ab
100	455.33b	0.025a	92.66b
500	496ab	0.025a	96.66a
1000	604a	0.025a	96ab
No treatment control	531.67ab	0.025a	96ab
Distilled water control	631.67a	0.025a	97a

* Means with same letter(s) in each column are not significantly different at $P>0.05$

در حشراتی مثل کرم ابریشم که در مرحله حشره کامل تغذیه نمی‌کنند میزان باروری تحت تاثیر رژیم غذایی دوره لاروی قرار دارد و تغییرات کمی و کیفی مواد غذایی بر باروری بالفعل و بالقوه تاثیر شدید می‌گذارد زیرا تغذیه لاروی بر تکامل دستگاه تناسلی در مرحله لاروی تاثیرگذار است (Legay, 1958). اسیدهای آمینه علاوه بر نقشی که در ساخت بافت‌های جدید، تولید آنزیم‌ها و هورمون‌ها دارند در فعالیت‌های تولیدمثلی به‌ویژه در پدیده زرده‌گذاری و ساخت زرده تخم نیز نقش مهمی ایفا می‌کند (Moon & Sohn, 1988; Chapman, 1998). اثرات غنی‌سازی برگ توت با مکمل‌های غذایی روی باروری محدود است (Khan & Saha, 1995; Chapman, 1998; Etebari, 2002) و تا کنون مطالعه جامعی در زمینه نقش اسید آمینه آسپاراژین بر میزان باروری به‌عمل نیامده است. غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین تاثیری روی میانگین وزن ۵۰ تخم و درصد تفریح تخم نداشت (جدول ۳). چنین نتایجی در مورد عدم وجود اختلاف معنی‌دار در میانگین وزن تخم و درصد تفریح تخم‌ها برای مکمل‌های دیگری چون اوره، گلیسین و گلوتامیک اسید نیز گزارش شده است و نتایج این مطالعه با نتایج به‌دست آمده اعتباری و دیگر محققین انطباق دارد (Etebari, 2002). تغییر رژیم غذایی حشره از نظر پروتیین در مراحل لاروی روی باروری حشرات کامل تاثیرگذار است (Chapman, 1998). بر اساس مطالعات انجام شده، تخم‌ها در مراحل اولیه نشو و نمای خود مقدار بیشتری پروتیین هضم و جذب می‌کنند و این عمل تحت تاثیر فاکتوری است که از اجسام آلتا ترشح می‌شود. این فاکتور با افزایش جذب مواد قندی عمل ذخیره‌سازی زرده را در تخم تسریع می‌کند و میزان باروری و درصد تفریح تخم‌ها را افزایش می‌دهد (Chapman, 1998). در بیشتر مطالعات، غنی‌سازی با مکمل‌های غذایی مختلف نتایج مشابهی از روند کاهش تعداد تخم تولیدی با افزایش غلظت به‌دست آمده است (Etebari, 2002) و مطالعات ما نیز در مورد کاهش تعداد تخم با افزایش غلظت آسپاراژین با بسیاری از این نتایج هم‌خوانی دارد. بنابراین، با توجه به نتایج اخیر غنی‌سازی برگ توت با مکمل‌های غذایی در منطقه نطنز نتوانست باعث افزایش عملکرد گردد.

به‌طور کلی، بر طبق نتایج این تحقیق، غنی‌سازی برگ توت با اسید آمینه آسپاراژین نتوانست سبب بهبود فراسنجه‌های بیولوژیکی، شاخص‌های اقتصادی و عملکرد تولیدمثلی کرم ابریشم در نطنز اصفهان گردد، لذا برای مطالعه مفصل این موضوع پیشنهاد می‌شود اثرات فصل پرورش، واریته توت، حلال مورد استفاده، تعداد دفعات تغذیه، تیمار در سنین مختلف نیز بررسی گردد تا به الگویی جامع در استفاده یا عدم استفاده از این مکمل دست یابیم.

سپاسگزاری

این تحقیق با مساعدت واحد تولید تخم نوغان نطنز شرکت سهامی پرورش کرم ابریشم ایران و مرکز تحقیقات کرم ابریشم ایران صورت گرفته است. بدینوسیله نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از آقایان رجبزاده سرپرست وقت مرکز تولید تخم نوغان نطنز و سایر همکاران از جمله آقایان دکتر علیرضا صیداوی، مهندس مانی غنی‌پور و مهندس علیرضا بیژن‌نیا در موسسه تحقیقات کرم ابریشم واقع در پسیخان رشت اعلام می‌دارند.

References

- Arai, N. and Ito, T. 1967.** Nutrition of silkworm *Bombyx mori* L. Quantitative requirements for essential amino acids. Bulletin of the Sericultural Experiment Station, 21: 373-384.
- Bajpeyi, C. M., Singh R. N. and Thangavellu, K. 1991.** Supplementary nutrient to increase silk production. Indian Silk, 30: 41-42.
- Chapman, R. F. 1998.** The Insects: Structure and Function. Cambridge University Press, Cambridge, 788 pp.
- Etebari, K. 2002.** Effect of enrichment mulberry leaves (*Morus alba*) with some vitamins and nitrogenous compounds on some economic traits and physiological characters of silkworm *Bombyx mori* L. MSc Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, 150pp. [In Persian]
- Fukuda, T. 1959.** The correlation between the mulberry leaves taken by the silkworm, the silk protein in the silk gland and the silk filament. Bulletin of the Sericultural Experiment Station, 15: 595-610.
- Horie, Y. 1995.** Recent advances of nutritional physiology and artificial diet of the silkworm, in Japan. Korean Journal of Sericultural Science, 37: 235-243.
- Horie, Y. and Watanabe, H. 1980.** Recent advances in sericulture. Annual Review of Entomology, 25: 49-71.
- Horie, Y. and Watanabe, K. 1983.** Effect of various kinds of dietary protein and supplementation with limiting amino acids on growth, haemolymph components and uric acid excretion in the silkworm, *Bombyx mori* L. Journal of Insect Physiology, 29(2): 187-199.
- Hugar, I. I. and Kaliwal, B. B. 1999.** Effect of zinc chloride on some economic parameters of the bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. Bulletin Sericultural Research, 10: 35-42.
- Inocuchi, T. 1970.** Nutritional studies of amino acids in the silkworm *Bombyx mori* III. Effect of dietary amino acid on the concentration of protein and free amino acids in the haemolymph of larvae. Bulletin of the Sericultural Experiment Station, 24: 389-408. (In Japanese With English Summary).
- Ito, T. and Arai, N. 1966.** Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*—XI. Requirements for aspartic and glutamic acids. Journal of Insect Physiology, 12(7): 861-869.
- Ito, T. and Arai, N. 1967.** Nutritive effects of alanine, cystine, glycine, serine, and tyrosine on the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of Insect Physiology, 13(12): 1813-1824.
- Joshi, K. L. 1985.** Studies on growth index for Eri Silkworm, *Philosamia ricini* Hutt. (Lepidoptera: Saturniidae). Sericologia, 25(3): 313-319.
- Kabila, V., Subburathinam, K. M. and Chetty, J. S. 1994.** Growth and economic characters of silkworm, *Bombyx mori* L. on feed enriched with neutralized aspartic acid. Indian Journal of Sericulture, 33: 80-81.
- Khan, M. D. and Saha, B. N. 1995.** Growth and development of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., on feed supplemented with alanine and glutamine. Sericologia, 35: 657-663.
- Krishnan, M. Subburathinam, K. M. and Janarthanan, S. 1995.** Effect of hydrolyzed soyprotein (P-soyatox) on haemolymph protein profile, larval and pupal characters of silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Sericologia, 35: 227-235.
- Kumararaj, S., Vijayaraghavan, S. and Krishnaswami, S. 1972.** Studies on fortification of mulberry leaves for feeding silkworm. Indian Journal of Sericulture, 11: 68-72.
- Legay, J. M. 1958.** Recent advances in silkworm nutrition. Annual Review of Entomology, 3: 75-86.
- Lim, S. H., Kim, Y. T., Lee, S. P., Rhee, I. J. and Lim, J. S. 1990.** "Sericultural Training Manual", FAO, Agricultural Services Bulletin, Rome, P. 103.
- Lu, S. L. and Jiang, Z. D. 1988.** Absorption and utilization of amino acids in mulberry leaves by *Bombyx mori* L. Acta Sericologia Sinica, 14: 198-204.

- Moon, J. Y. and Sohn, K. W. 1988.** Effects of dietary nutrients on vitellogenin and vitellin quantities in the silkworm, *Bombyx mori*. Agriculture Research of Seoul National University (Korea republic), 13(1): 51-56.
- Mosallanejad, H., Bagheri Zonus, E., Nouzari, J. and Talebi, M. 2002.** Effect of feeding the first to third instar larvae of silkworm (*Bombyx mori*) with mulberry leaves enriched with vitamin E on some reproductive characteristics. Proceeding of 15th Iranian Plant Protection Congress. September, Kermanshah. P. 167.
- Muniandy, S. Sheela, M. and Nirmala, S. 1995.** Effect of vitamins and minerals (Filibon) on food intake, growth and conversion efficiency in *Bombyx mori*. Environmental Ecology, 13: 433-435.
- Sarkar, A., Haque, M., Rab, M. and Absar, N. 1995.** Effect of feeding mulberry (*Morus* sp.) leaves supplemented with different nutrients to silkworm, *Bombyx mori* L. Current Science, 69: 185-188.
- SAS institute. 1997.** SAS/STAT User Guide for personal computers, Cary, NC: SAS institute.
- Sengupta, K., Singh, B. D. and Mustafi, J. C. 1972.** Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. I. Studies on the enrichment of mulberry leaf with various sugars, proteins, amino acids and vitamins for vigorous growth of the worm and increased cocoon crop protection. Indian Journal of Sericulture, 11(1): 11-27.
- Tazima, Y. 2001.** Improvement of biological functions in the silkworm. Translated from Japanese. Science Publishers, Inc, USA, 116 pp.
- Yamada, M., Nakamura, K. and Inocuchi, T. 1983.** Effects of diets on contents of free amino acids and urea in the cocoon shell of the silkworm *Bombyx mori*. Journal of Applied Entomology and Zoology, 27: 46-51. (In Japanese With English Summery).
- Yasmin, T., Absar, N. and Sarkar, A. A. 1995.** Effect of foliar spray of micronutrients and urea on the nutritional quality of mulberry (*Morus* sp.) leaves. Indian Journal of Sericulture, 34(2): 149-152.
- Zaman, K., Ashfaq, M. and Akram, W. 1996.** Effect of feeding Mg and N treated mulberry leaves on larval development of silkworm, *Bombyx mori* L. and silk yield. Pakistan Entomologist, 18: 78-79.

The effects of mulberry leaves enrichment with Asparagine amino acid on biological and economic parameters of silkworm *Bombyx mori* L.

R. Radjabi^{1*}, *R. Ebadi*², *S. Z. Mirhoseini*³

1- Plant Protection Department, Agricultural Faculty, Islamic Azad University, Dezful Branch, Dezful, Iran

2- Plant protection Department, Agricultural Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Animal Science Department, Agriculture Faculty, Guilan University, Rasht, Iran

Abstract

The effects of mulberry leaves enrichment with Asparagine amino acid biological parameters and economic characters of silkworm *Bombyx mori* L. were studied in Natanz, Iran. Different concentration of Asparagine treatments including 10, 100, 500 and 1000 mg/ml diluted by distilled water. Normal leaves and treated with distilled water were used as controls. Silkworm larvae fed on enriched mulberry leaves, once a day. All biological and economic parameters were measured by using standard techniques in sericulture. Results showed that enrichment of mulberry leaves with Asparagine had not significant effects on biological parameters and economic characters in treatment groups compared with controls. According to the results of this investigation, mulberry leaves enriched with Asparagine amino acid could not increase silk production, therefore the mentioned concentrations are not recommend in Natanz of Isfahan province.

Key words: Silkworm, Enrichment, Biological parameters, Economic characteristic

* Corresponding Author, E-mail: radjabi1360@gmail.com

Received: 21 May 2009 - Accepted: 25 August 2009