

## تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریوفلاوین بر عملکرد اقتصادی و باروری کرم ابریشم *Bombyx mori* L. در استان گیلان

روح الله رجبی کنف گورابی<sup>۱</sup>، رحیم عبادی<sup>۱\*</sup>، محمد فضیلتی<sup>۲</sup> و سید ضیاالدین میرحسینی<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۷/۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۱/۲۳)

### چکیده

تأثیر غنی‌سازی برگ توت سفید (*Morus alba* L.) با ویتامین ریوفلاوین در غلظت‌های ۰.۷، ۳.۷ و ۷۷ و ۱۲۷ پی پی ام روی رشد و نمو لاروها، ویژگی‌های پيله و باروری کرم ابریشم *Bombyx mori* L. هیبرید ۱۰۴×۱۰۳ مورد مطالعه قرار گرفت. لاروهای کرم ابریشم روزانه در یک وعده با برگ‌های تازه توت شین اینچه نویسه غنی‌سازی شده با ویتامین ریوفلاوین تغذیه شدند. تمامی پارامترهای بیولوژیکی و اقتصادی بر اساس روش‌های رایج در نوغانداری اندازه‌گیری شد. وزن لاروی در روز هفتم سن پنجم در تیمار ۷۷ پی پی ام بیشترین مقدار را در بین تیمارها دارا بود که در مقایسه با شاهد ۴۷ درصد افزایش داشت. بیشترین وزن پيله و شفیره ماده در تیمار ۱۲۷ پی پی ام برابر ۱/۶۲ و ۱/۱۷ گرم و برای جنس نر در تیمار ۳۷ پی پی ام برابر ۱/۱۷ و ۰/۹ گرم ثبت شد. تیمار ۷۷ پی پی ام بیشترین میزان وزن قشر پيله و در صد قشر پيله را برای ماده ۰/۳۲ گرم و ۲۱/۴۶ درصد و نر ۰/۳۱ گرم و ۲۶/۰۶ درصد دارا بود. بیشترین وزن ۵۰ تخم در تیمار ۱۲۷ پی پی ام برابر ۰/۲۷ گرم ثبت شد در حالی که تیمار ۷۷ پی پی ام بیشترین تعداد تخم و در صد تفریح آن را دارا بود. نرخ مؤثر پرورش دارای بیشترین میزان در تیمار شاهد، ۷۲ درصد بود، ولی این افزایش در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد که ریوفلاوین می‌تواند در غلظت ۷۷ پی پی ام برای افزایش تولید پيله و تخم کرم ابریشم *B. mori* استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: کرم ابریشم، غنی‌سازی، ریوفلاوین، شاخص‌های اقتصادی، باروری

### مقدمه

نقش مهمی در رشد و تولید پيله دارد. با توسعه رژیم‌های غذایی مصنوعی پیشرفت‌های مهمی در تحقیقات تغذیه کرم ابریشم به‌وجود آمده است. لذا رژیم‌های غذایی مصنوعی افزایش یافته‌اند. چون در نواحی معتدل برگ‌های توت در سرتاسر سال وجود ندارند لذا تأثیر این رژیم‌های غذایی مصنوعی با فرمول‌های مختلف روی تولید پيله بهتر به‌وسیله

تغذیه نقش مهمی در پرورش کرم ابریشم و بهبود خصوصیات تجاری آن ایفا می‌کند. لگای در سال ۱۹۵۸ بیان کرد که تولید کرم ابریشم به تغذیه لاروی وابسته است و ارزش غذایی برگ‌های توت نقش مؤثری در تولید ابریشم با کیفیت دارد (۱۷). تهیه برگ‌های توت غنی از نظر مواد غذایی برای کرم ابریشم

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. استادیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. دانشیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ebadir@cc.iut.ac.ir

شاخص‌های اقتصادی کرم ابریشم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### پرورش کرم ابریشم

کرم ابریشم دو نسله چینی/ژاپنی هیبرید  $104 \times 103$  در مرکز تحقیقات کرم ابریشم ایران واقع در پسیخان رشت تحت شرایط استاندارد  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی  $75 \pm 5$  درصد و دوره روشنایی: تاریکی، ۸: ۱۶ ساعت پرورش داده شد. در این پرورش پاییزه از وارسته شین اینچه نویسه توت موجود در توستان این مرکز استفاده شد.

### آماده‌سازی تیمارها

ریبوفلاوین (ویتامین B<sub>۲</sub>) تهیه شده از کمپانی مرک آلمان در غلظت‌های مختلف (۷، ۳۷، ۷۷ و ۱۲۷ppm) مورد استفاده قرار گرفت. برگ‌های تازه توت وارسته شین اینچه نویسه برای مدت ۱۵ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور شدند سپس در مجاورت هوا تا زمان استفاده خشک شده آن‌گاه در اختیار لاروها قرار گرفتند. لاروها از ابتدای سن اول روزانه در سه نوبت تغذیه شدند که نوبت ظهر برگ‌های غنی‌سازی شده و نوبت صبح و شب برگ‌های معمولی بود. در سنین چهارم و پنجم به جای غوطه‌وری برگ‌ها، محلول‌های تهیه شده روی برگ‌ها اسپری شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا در اختیار لاروها قرار گرفت. در تیمار کنترل نیز از برگ‌های معمولی بدون خیساندن در آب و یا اسپری آب روی آنها استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار که هر تکرار شامل یک سینی پرورش حاوی ۱۵۰ لارو بود انجام شد.

### وزن لاروی، خصوصیات اقتصادی و تولید مثلی

#### وزن لاروی

به منظور بررسی اثر تغذیه لاروها از برگ‌های غنی شده با مکمل‌های غذایی، وزن آنها در روزهای ۲ و ۴ سن چهارم و

محققان بسیاری چون هامامورا در سال ۱۹۶۴ مورد مطالعه مفصل قرار گرفت. حتی در هند، پاکستان و بنگلادش که برگ‌های توت در سرتاسر سال وجود دارد غنی‌سازی برگ‌های توت با مکمل‌های غذایی در حال توسعه است (۱ و ۱۳). تیمار برگ‌های توت با ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی و ترکیبات دیگر، با هدف افزایش عملکرد، به طور عموم از سال ۱۹۹۰ مورد توجه قرار گرفته است (۱). غنی‌سازی مناسب باعث افزایش بازده تولید پیله و افزایش درآمد شده و منجر به گرایش بیشتر کشاورزان به این صنعت می‌شود. سکی و اوشیکانه گزارش کردند وقتی لاروها روی برگ‌های غنی‌سازی شده پرورش یافتند. رشد و نمو بهتر و پیله‌هایی با کیفیت بالا به وجود آمد (۲۳). سنگوپتا و همکاران در سال ۱۹۷۲ گزارش کردند که کرم ابریشم به قندها، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، مواد معدنی و مواد دیگر برای رشد طبیعی، بقا و رشد غدد ابریشمی خود و بهبود ابریشم با کیفیت نیازمند است (۲۴). مواد غذایی مختلف همچون ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، پروتئین‌ها و مشتقات آنها در غنی‌سازی برگ‌های توت مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱). گزارش شده است که ریبوفلاوین، نیاسین، بیوتین، کولین، اینوزیتول، پنتاتونیک اسید، پیریدوکسین و تیمین از ویتامین‌های خانواده B برای کرم ابریشم ضروری هستند (۱۴). محققان بسیاری اثرات تیمار برگ‌های توت با ویتامین‌ها را روی کرم ابریشم مطالعه کردند و گزارش کردند که حالت تغذیه‌ای برگ توت می‌تواند با غنی‌سازی با ویتامین‌ها و مواد مغذی دیگر بهبود یابد (۴، ۶، ۷، ۸، ۱۰ و ۱۲). در نوار ساحلی شمال ایران بیش از هفت ماه برگ سبز توت در دسترس است اما کیفیت پایین آن از اواخر تابستان به بعد به دلیل شرایط آب و هوایی لزوم غنی‌سازی آن را با مکمل‌های غذایی جهت افزایش راندمان تولید و نزدیک سازی آن به سطح تولید بهاره اجتناب‌ناپذیر می‌سازد (۱، ۳ و ۹).

تحقیق زیر به منظور بررسی اثر غنی‌سازی برگ‌های توت با ویتامین ریبوفلاوین روی برخی از ویژگی‌های بیولوژیکی و

تعداد لاروهای استفاده شده برای پرورش در آغاز آزمایش برای هر تیمار به دست آمد.

### جفت‌گیری و تخم‌گذاری پروانه‌ها

با توجه به این‌که پروانه‌های نر زودتر از پروانه‌های ماده ظاهر می‌شوند لذا جهت انجام فرایند جفت‌گیری و تخم‌گیری از آنها پروانه‌های نر پس از ظهور در یخچال و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان ظهور پروانه‌های ماده ذخیره شدند. پس از ظهور حشرات ماده جهت جفت‌گیری یک جفت پروانه نر و ماده به مدت ۳ الی ۴ ساعت در زیر لیوان‌های مخصوص رو باز در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از جفت‌گیری پروانه‌ها از هم جدا و ماده‌ها به کاغذهای آغشته به نشاسته منتقل شدند و با لیوان پلاستیکی محصور گردیدند تا تخم‌ریزی انجام شود. پس از ۲۴ ساعت پروانه‌های ماده خارج شده و تعداد تخم‌گذارده شده آنها شمارش شد. درصد تفریخ طبیعی تخم‌ها نیز با ذخیره‌سازی آن تا بهار سال بعد و تفریخ در اتاقک تفریخ ثبت شد.

### تشریح تخمدان کرم ابریشم

با توجه به امکان تأثیر غنی‌سازی روی تخمدان‌های کرم ابریشم ماده، این اندام در مرحله قبل از جفت‌گیری و تخم‌گذاری حشره ماده تشریح شد. بدین ترتیب که ابتدا حشره ماده با کلروفورم بی‌حس گردید آن‌گاه بال‌ها و سر آن جدا و سپس در فریزر ۲۰-درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از خروج از فریزر روی پارافین جامد با سنجاق حشره ثابت گردید به گونه‌ای که سطح پشتی آن رو به بالا باشد و به وسیله قیچی کوچک و نوک تیز دو برش طولی در دو طرف شکم و یک برش عرضی در قاعده شکم حشره ایجاد گردید و صفحات پشتی شکم با احتیاط و دقت برداشته شد. سپس حشره در سرم فیزیولوژیکی ۰/۹ درصد (NaCl) غوطه‌ور و به آرامی ۸ لوله تخم آن به‌طور کامل جدا شد و در پتری دیش حاوی الکل ۷۵ درصد قرار داده شد.

روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ سن پنجم با ترازوی دیجیتالی با حساسیت  $\pm 0.01$  گرم اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ۳۰ لارو به صورت تصادفی از هر تکرار توزین و میانگین آن به‌عنوان وزن آن سن محسوب شد.

### وزن پيله

یک هفته بعد از مابشی‌گذاری نسبت به برداشت و توزین وزن پيله اقدام شد. بدین ترتیب که پس از برداشت، پيله‌ها تیغ زده شد تا شفیره‌های نر از ماده جدا گردند. پس از جداسازی پيله‌های نر و ماده ۳۰ پيله به‌طور تصادفی توزین و میانگین آن به‌عنوان شاخصی برای تجزیه آماری استفاده شد.

### وزن شفیره

پس از برش زدن پيله، شفیره‌ها بر حسب نر و ماده بودن جدا 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 به‌عنوان وزن قشر پيله نر یا ماده آن تیمار ارایه شد.

### درصد قشر پيله

درصد قشر پيله از رابطه زیر محاسبه گردید:

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

که در آن علائم اختصاری عبارت‌اند از:

CSR=Cocoon Shell Ratio درصد قشر پيله

SW=Shell Weight وزن قشر پيله

CW=Cocoon Weight وزن پيله

### نرخ مؤثر پرورش (Effective Rate of Rearing=ERR)

نرخ مؤثر پرورش از تقسیم تعداد پيله‌های برداشت شده به

تیمار ۷۷ppm بیشترین مقدار بود که بیانگر مناسب بودن این تیمار برای غنی‌سازی و افزایش تولید در شرایط آب و هوای شمال کشور می‌باشد.

### تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولوین بر باروری و تفریح تخم کرم ابریشم

داده‌های این آزمون در جدول ۳ ارائه شده است. تیمار برگ‌های توت با مکمل غذایی ویتامین ریبولوین تأثیر معنی‌داری بر تعداد تخم و درصد تفریح آنها نداشت. با این وجود تیمار ۷۷ppm ریبولوین تعداد تخم بیشتری را در مقایسه با بقیه دارا بود. با افزایش غلظت بر تعداد تخم افزوده شد و بیشترین آن در این تیمار (۷۷ ppm) مشاهده شد اما در غلظت بالاتر یعنی ۱۲۷ppm دوباره شاهد کاهش تعداد تخم و تفریح‌پذیری تخم بودیم. تشریح تخمدان‌های حشره کامل نشان داد که تعداد لوله‌های تخم در گروه‌های تیمار و شاهد تغییر نیافته است و افزایش تعداد تخم نتیجه افزایش تعداد تخم در ۸ لوله تخم می‌باشد. بر اساس مشاهدات به عمل آمده بر خلاف مواد شبه هورمونی که سبب تغییر مشخص ابعاد تخم‌ها می‌گردد ریبولوین سبب چنین تغییری نشد.

### تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولوین بر نرخ مؤثر پرورش کم ابریشم

داده‌های حاصل از این مطالعه در شکل ۱ ارائه شده است. نرخ مؤثر پرورش به‌عنوان یکی از معیارهای مهم در مدیریت پرورش کرم ابریشم حائز اهمیت است زیرا بیانگر کیفیت غذای مصرف شده لارو و شرایط پرورش می‌باشد. غنی‌سازی برگ توت سبب کاهش جزیی نرخ مؤثر پرورش در تمامی تیمارها در مقایسه با شاهد گردید اگر چه این کاهش معنی‌دار نبود ولی با توجه به افزایش درصد قشر پيله در تیمار ۷۷ppm قابل اغماض است که این امر موجب افزایش تولید ابریشم می‌گردد.

این مطالعات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و داده‌های به‌دست آمده توسط نرم افزار SAS نسخه ۸/۲ تجزیه و تحلیل گردیدند. علاوه بر این میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

### نتایج

#### تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولوین بر میانگین وزن لاروی کرم ابریشم

داده‌های این آزمون در جدول ۱ ارائه شده است. وزن لاروی در روز دوم سن چهارم در اثر تغذیه لاروها از برگ‌های توت غنی شده با ویتامین ریبولوین نسبت به شاهد (۱۳۳/۰ گرم) به‌طور معنی‌داری کمتر بود و بین تیمارها نیز تفاوت معنی‌داری دیده نشد. برخلاف روز دوم در روز چهارم سن ۴ لاروی، تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، گرچه میانگین وزن لاروی در گروه شاهد کمی بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۱). در طول سن پنجم نیز شاهد دارای حداکثر وزن لاروی در تمام مدت بود که اختلاف معنی‌دار با تمامی تیمارها در روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم داشت ولی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از آغاز روز سوم غلظت ۷۷ppm در میان تیمارها بیشترین میزان وزن لاروی را نشان داد و بعد از این افزایش وزن لاروی در تیمار ۱۲۷ppm دوباره کاهش یافت که نشان‌دهنده مرز بین غلظت مناسب و نامناسب در بین تیمارهاست.

#### اثر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولوین بر خصوصیات پيله کرم ابریشم

با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول ۲ تیمار ۷۷ppm ریبولوین سبب افزایش وزن پيله، وزن قشر پيله و درصد قشر پيله نر گردید. شفیره نر حداکثر وزن خود را در تیمار ۳۷ppm نشان داد. این در حالی است که در جنس ماده تیمار ۱۲۷ppm بیشترین مقدار وزن پيله، وزن قشر پيله و وزن شفیرگی را دارا بود. درصد قشر پيله در هر دو جنس در

جدول ۱. اثر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولایوین روی وزن سنین ۴ و ۵ لاری (گرم) کرم ابریشم *Bombyx mori*

روز هفتم	سن پنجم			سن چهارم			غلظت‌ها (ppm)
	روز پنجم	روز سوم	روز اول	روز چهارم	روز دوم	روز چهارم	
۲/۳۶±۰/۰۸۷ <sup>a</sup>	۱/۴۵۲±۰/۰۹۵ <sup>b</sup>	۰/۸۲۲±۰/۰۲۷ <sup>b</sup>	۰/۵۲۴±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۰/۱۷۹±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۹۹±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۰۹۹±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۷
۲/۴۲±۰/۱۰۰ <sup>a</sup>	۱/۴۹۵±۰/۰۵۱ <sup>b</sup>	۰/۸۸۵±۰/۰۱۰ <sup>b</sup>	۰/۵۵۴±۰/۰۱۳ <sup>b</sup>	۰/۱۷۷±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۹۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۰۹۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۳۷
۲/۴۹۷±۰/۱۱۳ <sup>a</sup>	۱/۶۵۸±۰/۰۸۱ <sup>ab</sup>	۰/۹۴۹±۰/۰۲۷ <sup>b</sup>	۰/۵۵۲±۰/۰۰۸ <sup>b</sup>	۰/۱۷۵±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۰۰±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۰۰±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۷۷
۲/۵۲۴±۰/۱۰۶ <sup>a</sup>	۱/۴۸۲±۰/۱۰۳ <sup>b</sup>	۰/۸۷۶±۰/۰۶۰ <sup>b</sup>	۰/۵۴۳±۰/۰۲۴ <sup>b</sup>	۰/۱۷۵±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۰۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۰۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۱۲۷
۲/۵۷۹±۰/۰۷۷ <sup>a</sup>	۱/۸۸۰±۰/۱۰۵ <sup>a</sup>	۱/۰۷۸±۰/۰۳۰ <sup>a</sup>	۰/۶۱۵±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۰/۲۶۸±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۰/۱۳۳±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۱۳۳±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	شاهد

در هر ستون اعدادی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول ۲. اثر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبولایوین بر خصوصیات پیله کرم ابریشم *Bombyx mori*

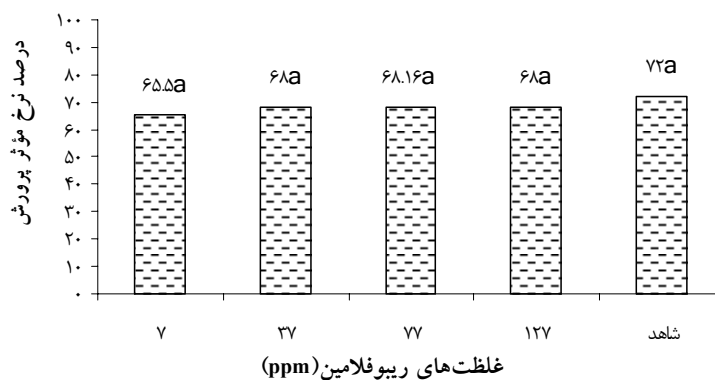
درصد قشر پیله	وزن قشر (گرم)	وزن پیله (گرم)	درصد قشر پیله	وزن قشر (گرم)	وزن پیله (گرم)	وزن شفیقه (گرم)	وزن قشر (گرم)	وزن پیله (گرم)	وزن شفیقه (گرم)	وزن قشر (گرم)	وزن پیله (گرم)	غلظت‌ها (ppm)
۲۵/۱۸±۰/۸۹۳ <sup>a</sup>	۰/۲۷۹±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>	۱/۱۳۲±۰/۰۲۱ <sup>ab</sup>	۲۰/۸۷±۰/۸۹۳ <sup>a</sup>	۰/۲۹۶±۰/۰۰۹ <sup>ab</sup>	۱/۱۳۱±۰/۰۲۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۲۷±۰/۰۱۵ <sup>ab</sup>	۰/۲۷۹±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>	۱/۱۳۲±۰/۰۲۱ <sup>ab</sup>	۰/۸۵۳±۰/۰۱۶ <sup>ab</sup>	۰/۲۹۶±۰/۰۰۹ <sup>ab</sup>	۱/۴۲۷±۰/۰۱۵ <sup>ab</sup>	۷
۲۳/۴۹±۰/۵۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۷۴±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۱/۱۶۹±۰/۰۲۲ <sup>a</sup>	۲۰/۰۸±۰/۵۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۹۳±۰/۰۰۳ <sup>ab</sup>	۱/۱۶۸±۰/۰۲۲ <sup>a</sup>	۱/۴۶۱±۰/۰۲۰ <sup>ab</sup>	۰/۲۷۴±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۱/۱۶۹±۰/۰۲۲ <sup>a</sup>	۰/۸۹۵±۰/۰۲۱ <sup>a</sup>	۰/۲۹۳±۰/۰۰۳ <sup>ab</sup>	۱/۴۶۱±۰/۰۲۰ <sup>ab</sup>	۳۷
۲۶/۰۶±۱/۰۱۶ <sup>a</sup>	۰/۳۱۱±۰/۰۱۳ <sup>a</sup>	۱/۱۹۵±۰/۰۴۱ <sup>a</sup>	۲۱/۴۶±۱/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۳۱۸±۰/۰۱۳ <sup>a</sup>	۱/۱۶۸±۰/۰۲۱ <sup>a</sup>	۱/۴۸۷±۰/۰۱۲ <sup>ab</sup>	۰/۳۱۱±۰/۰۱۳ <sup>a</sup>	۱/۱۶۸±۰/۰۲۱ <sup>a</sup>	۰/۸۸۴±۰/۰۳۵ <sup>a</sup>	۰/۳۱۸±۰/۰۱۳ <sup>a</sup>	۱/۴۸۷±۰/۰۱۲ <sup>ab</sup>	۷۷
۲۴/۸۱±۰/۵۷۰ <sup>a</sup>	۰/۲۸۴±۰/۰۱۰ <sup>a</sup>	۱/۱۲۵±۰/۰۰۲ <sup>ab</sup>	۲۰/۰۹±۰/۵۷۰ <sup>a</sup>	۰/۳۰۹±۰/۰۱۰ <sup>ab</sup>	۱/۱۶۹±۰/۰۲۰ <sup>a</sup>	۱/۶۲۲±۰/۱۴۶ <sup>a</sup>	۰/۲۸۴±۰/۰۱۰ <sup>a</sup>	۱/۱۶۹±۰/۰۲۰ <sup>a</sup>	۰/۸۶۱±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۰/۳۰۹±۰/۰۱۰ <sup>ab</sup>	۱/۶۲۲±۰/۱۴۶ <sup>a</sup>	۱۲۷
۲۵/۸۵±۰/۵۵۴ <sup>a</sup>	۰/۲۷۶±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۱/۰۷۰±۰/۰۱۴ <sup>b</sup>	۲۰/۴۹±۰/۵۵۴ <sup>a</sup>	۰/۲۷۷±۰/۰۰۸ <sup>b</sup>	۱/۰۷۴±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۱/۳۵۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۲۷۶±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۱/۰۷۴±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۰/۷۶۳±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>	۰/۲۷۷±۰/۰۰۸ <sup>b</sup>	۱/۳۵۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	شاهد

در هر ستون اعدادی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول ۳. نتایج غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریوفلاوین بر ویژگی‌های تخم کرم ابریشم *Bombyx mori*

غلظت‌ها (ppm)	میانگین تعداد تخم هر پروانه	درصد تفریخ
۷	۴۱۴/۳±۳۳/۰۹ <sup>a</sup>	۹۲±۲/۵۱۶ <sup>a</sup>
۳۷	۴۶۳/۶±۴۲/۷۷ <sup>a</sup>	۹۰/۳±۴/۱۷۶ <sup>a</sup>
۷۷	۵۳۵±۴۰/۲۰ <sup>a</sup>	۹۶/۶±۰/۳۳۰ <sup>a</sup>
۱۲۷	۴۹۹/۳±۳۲/۹۱ <sup>a</sup>	۹۳±۲/۰۸۱ <sup>a</sup>
شاهد	۴۹۱/۶±۲۴/۰۳ <sup>a</sup>	۹۵/۶±۱/۴۵۲ <sup>a</sup>

در هر ستون اعدادی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.



شکل ۱. تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریوفلاوین بر نرخ مؤثر پرورش کرم ابریشم *Bombyx mori*

## بحث

گزارش‌های بسیاری از آثار مثبت غنی‌سازی برگ توت با مکمل‌های غذایی وجود دارد (۴، ۱۰، ۹، ۱۶، ۱۹، ۲۰، ۲۲ و ۲۴). در میان مکمل‌های غذایی، ویتامین‌ها بعد از مواد معدنی در درجه دوم اهمیت قرار دارند (۲، ۱۰، ۱۶، ۱۹، ۲۰، ۲۲ و ۲۴) که همچون مکمل‌های دیگر به نتایج متفاوتی منجر شده‌اند (۱). در تیمار برگ توت بیش از هر ویتامین دیگر اسید آسکوربیک استفاده شده است (۱) اگر چه اسید فولیک، سیانوکبالمین، نیاسین، ویتامین E و مولتی ویتامین‌ها نیز مطالعه شده‌اند (۳ و ۸).

در این مطالعه ریوفلاوین در تیمار ۷۷ppm سبب افزایش وزن لاروی گردید که از آن می‌توان به‌عنوان غلظت مناسب یاد کرد. در بررسی‌هایی که توسط اعتباری و متین‌دوست در سال

۲۰۰۵ با تیمار برگ توت با مولتی ویتامین (شامل ۳ میلی‌گرم پیریدوکسین + ۳ میلی‌گرم ریوفلاوین + ویتامین‌های دیگر) صورت گرفت افزایش وزن لاروی در تیمار ۲/۵ درصد مولتی ویتامین در روز اول سن پنجم برابر ۶/۶ درصد و در روز پنجم همین سن این درصد افزایش وزن به ۱۰/۲ درصد رسید. این روند افزایش وزن لاروی با افزایش غلظت ادامه نیافت و تیمار ۵ درصد کاهش وزن لاروی را از خود نشان داد. در مطالعات انجام شده نیز با ویتامین ریوفلاوین نتایج مشابهی حاصل شد چنانچه بعد از تیمار مناسب ۷۷ppm کاهش وزن لاروی با افزایش غلظت در تیمار ۱۲۷ppm ثبت شد که نشان‌دهنده اثرات منفی بیش از حد ویتامین‌ها روی فیزیولوژی لاروهاست. گزارش شده است که تیمار برگ توت با Fe-Plus® (فومارات آهن + اسید فولیک یا ویتامین B<sub>۹</sub>) به‌طور معنی‌داری وزن لاروی

و شفیرگی را در گروه‌های تیمار افزایش داد. اگرچه با افزایش غلظت آثار مخرب آن روی وزن لاروی مشهود بود (۱۶). دلایل متفاوتی برای کاهش وزن لاروی با افزایش غلظت ارایه شده است که مهم‌ترین آن می‌تواند اختلال در پوست‌اندازی در نتیجه تغییرات فیزیولوژیکی باشد (۱). به نظر می‌رسد افزایش ویتامین ریبولوین تا حد معینی سبب بهبود رشد لاروی گردد. ناکامورا در سال ۲۰۰۰ تأثیر کمبود ویتامین ریبولوین را روی رشد و فیزیولوژی کرم ابریشم بررسی کرد و مشاهده نمود که وقتی لاروهای کرم ابریشم روی غذای فاقد ریبولوین پرورش یافتند رشدشان به تدریج کم شد و محتوای کل ویتامین ریبولوین در بدن لارو به شدت کاهش یافت. از این رو تغییرات وزن لاروی با تغییر میزان ریبولوین رژیم غذایی قابل انتظار است (۱۸). ریبولوین نقش مهمی در متابولیسم ایفا می‌کند و افزایش مطلوب آن در رژیم غذایی از طریق افزایش متابولیسم پروتئین‌ها و لیپیدها و ماده‌سازی سبب افزایش وزن لاروی می‌گردد (۱۳، ۱۴ و ۱۵).

در برخی موارد افزایش ویتامین‌ها نه تنها سبب افزایش وزن لاروی و عملکرد اقتصادی نمی‌شود بلکه آثار منفی بسیاری نیز روی این صفات دارند. نیاسین در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر وقتی توسط لاروها تغذیه شد به‌عنوان ضد تغذیه عمل کرد و متابولیسم لاروها را کاهش داد. در این لاروها مرگ و میر بالا مشاهده شد و به دلیل کاهش شدید کلسترول که ماده اصلی سنتز اکدایزون است پوست‌اندازی سخت شد و طول مرحله لاروی ۳۶ ساعت بیش از تیمار شاهد افزایش یافت (۱).

در این راستا مطالعات ما نیز افزایش طول دوره لاروی را به یک میزان در تمامی تیمارها از خود نشان داد. بسیاری از محققین نشان داده‌اند که ویژگی‌های لاروی با غلظت‌های مختلف مکمل‌های غذایی همچون اسید اسکوربیک، اسید فولیک، تیامین، ویتامین ب کمپلکس و سایر مکمل‌های غذایی بهبود می‌یابد (۱۹، ۲۰ و ۲۲). برخی محققین این افزایش وزن لاروی را به ویژگی‌های این ترکیبات در تحریک کرم ابریشم به تغذیه بیشتر نسبت می‌دهند.

مهم‌ترین دلیل استفاده از مکمل‌های غذایی در تغذیه کرم ابریشم، بررسی تأثیر آنها بر افزایش عملکرد و ویژگی‌های پيله می‌باشد (۲۴). گزارش شده است که تیمار ۲ درصد اسید اسکوربیک باعث افزایش وزن پيله‌ها و وزن قشر پيله نر و ماده می‌گردد (۱). اسید فولیک با دز ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر یکی دیگر از ویتامین‌های خانواده B نیز آثار مثبتی بر شاخص‌های اقتصادی داشته است (۱۹). تیمار ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیامین باعث افزایش ۶ درصدی وزن پيله ماده شده است که افزایش ۱۱ درصدی وزن قشر پيله ماده را به دنبال داشته است. وزن پيله نر نیز با افزایش ۲۲ درصدی همراه بود که سبب افزایش ۳ درصدی وزن قشر پيله نر شده است (۲۲). نیروانی و کالیوال در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که تیمار خوراکی با ویتامین تیامین در غلظت‌های مختلف برای لاروهای کرم ابریشم به افزایش معنی‌دار در طول دوره لاروی، وزن پيله و وزن قشر و باروری در کرم ابریشم منجر می‌شود (۱۹). در این مطالعات نیز نتایج مثبتی مشاهده شد که بر اساس آن غلظت مناسب ۷۷ppm ویتامین ریبولوین، بیشترین وزن لاروی، بیشترین میزان قشر پيله و درصد قشر پيله را دارا بود و این امر به دلیل نقش این ویتامین در رهاسازی انرژی از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها قابل انتظار است (۵).

دلایل مختلفی برای افزایش عملکرد اقتصادی با کاربرد ویتامین‌های مختلف ذکر شده است. گزارش‌های بسیاری در مورد نقش ویتامین‌های خانواده B به‌ویژه اسید فولیک و سیانوکوبالمین در سنتز پروتئین و اسیدهای نوکلئیک وجود دارد. تیمار برگ‌های توت با ویتامین B<sub>۱۲</sub> که در برگ‌های توت وجود ندارد می‌تواند سنتز اسید نوکلئیک و پروتئین‌ها را در غدد ابریشم افزایش دهد (۶). شاید ریبولوین در تیمار ۷۷ppm با افزایش سنتز پروتئین در غدد ابریشم ساز یا دخالت غیر مستقیم در سنتز اسیدهای نوکلئیک سبب افزایش تولید گردیده است.

اثبات شده است که تیمار ۳ درصد اسید اسکوربیک وقتی از شروع سن اول لاروی استفاده گردید، هم پارامترهای پيله و هم تعداد تخم را کاهش داده است (۱). در نتیجه واضح است که

بیانگر این اصل باشد که بیشبود مکمل‌های غذایی سبب آثار منفی بر باروری کرم ابریشم خواهد شد. ساها و خان در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که غلظت‌های بالای ویتامین‌ها باروری بالقوه و باروری بالفعل کرم ابریشم را کاهش می‌دهد (۲۱). بنابراین تیمار ۱۲۷ppm ریبوفلاوین با کاهش درصد تفریح همراه بود لذا این تیمار برای غنی‌سازی برگ توت در منطقه شمال کشور با هدف افزایش تولید تخم مناسب به‌نظر نمی‌رسد. گزارش شده که درصد تفریح تخم در نتیجه تیمار برگ توت با نیاسین کاهش یافت (۱) این در حالی است که در مطالعه حاضر تیمار ۷۷ppm ریبوفلاوین درصد تفریح بالاتری را حتی بیشتر از شاهد داراست. غنی‌سازی برگ توت با مکمل‌های ویتامینی ریبوفلاوین تغییری در مرفولوژی لوله‌های تخم ایجاد نکرد. نکته قابل ذکر تنها تغییر رنگ اواریول‌ها از سفید به زرد کم‌رنگ بود که در تیمارهای ریبوفلاوین مشاهده گردید. ریبوفلاوین به‌عنوان رنگ‌مایه همولنف به همراه تاراگزانتین (Taraxanthin)، کلروفیل و آلفا کاروتن معرفی شده است. این در حالی است که رنگ‌مایه‌های کرم ابریشم فلاوین، گزانتین و کاروتن گزارش شده‌اند (۵). چنین به‌نظر می‌رسد که علت این تغییر رنگ ناشی از رسوب مازاد خود ریبوفلاوین است که به‌صورت کریستال‌های نارنجی رنگ می‌باشد. معمولاً مقادیر زیاد ریبوفلاوین در لوله‌های مالپیگی تجمع می‌یابد که این مورد در صورت پرورش لاروهای کرم ابریشم روی غذای فاقد ریبوفلاوین دیده نشد (۱۸).

طبق نتایج به‌دست آمده در این تحقیق غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبوفلاوین در غلظت ۷۷ppm می‌تواند سبب بهبود عملکرد اقتصادی گردد لذا جهت امکان‌سنجی استفاده این مکمل غذایی پیشنهاد می‌شود آثار غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبوفلاوین در سنین مختلف لاروی کرم ابریشم روی عملکرد اقتصادی بیشتر بررسی شود.

مرحله لاروی و نوع برگ‌های مورد استفاده مهم‌ترین اثر را روی نتایج به‌دست آمده دارند و به آسانی نمی‌توانند در مقیاس بزرگ ارائه شوند. از آنجا که مطالعات غنی‌سازی ما از سن اول لاروی صورت گرفت لذا باید موارد احتمالی آثار منفی مکمل‌ها را به اختلاف در نیاز لاروها به این ویتامین نسبت داد. چنانچه میزان نیاز لاروهای کرم ابریشم به ویتامین ریبوفلاوین در مراحل مختلف لاروی متفاوت است (۱۴).

آنچه در کل قابل ذکر است کاهش تولید ابریشم در تیمارهای با غلظت بالای مکمل‌های غذایی است. چنان‌که فاروکی و خان در سال ۱۹۹۲ اثبات کردند که پارا آمینو بنزویک اسید از مشتقات ویتامین اسید فولیک در تیمارهای پایین ۱ و ۱۰ppm باعث بهبود ویژگی‌های اقتصادی گردید. اما غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ppm آثار زیانباری روی وزن پيله و وزن قشر پيله داشتند و سبب کاهش این پارامترهای اقتصادی گردیدند (۱۱).

در پرورش نوغان باروری بالقوه و باروری بالفعل دو فاکتور مهم هستند. زیرا مستقیماً با تولید ابریشم مرتبط بوده و تعداد نوزادان تولید شده را جهت تئیدن پيله تعیین می‌کنند (۱۷). غنی‌سازی برگ توت با ویتامین ریبوفلاوین سبب افزایش تعداد تخم در تیمار ۷۷ppm گردید البته این افزایش تعداد و درصد تفریح تخم اختلاف زیادی با سایر تیمارها و شاهد نداشت ولی به لحاظ تولید ابریشم بیشتر حاصل از لاروها مناسب‌تر است. چنین نتایج مثبتی از تأثیر مکمل‌های غذایی ویتامینی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. چنان‌که اعتباری در سال ۱۳۸۱ گزارش کرد که تیمار برگ‌های توت با ویتامین نیاسین از آغاز سن پنجم سبب افزایش تعداد تخم در تیمارهای ۱ و ۲/۵ درصد می‌شود ولی با افزایش غلظت به ۵ درصد با کاهش معنی‌دار تعداد تخم مواجه می‌گردد (۱). در این مطالعه چنین روندی برای تیمار بالای ۱۲۷ppm ریبوفلاوین نیز ثبت شد تا

## منابع مورد استفاده

۱. اعتباری، ک. ۱۳۸۱. اثر غنی‌سازی برگ توت (*Morus alba*) با برخی ویتامین‌ها و ترکیبات نیتروژنه روی برخی ویژگی‌های



- اقتصادی و خصوصیات فیزیولوژیکی کرم ابریشم (*Bombyx mori* L.)، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. رجیبی کنف گورابی، ر.، ر. عبادی، م. فضیلتی و س. ض. میرحسینی. ۱۳۸۵. تأثیر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین پیریدوکسین (B۶) بر شاخص‌های اقتصادی و پارامترهای بیولوژیکی کرم ابریشم *Bombyx mori*. هفدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. ۱۱ تا ۱۴ شهریور، تهران.
۳. مصلی‌نژاد، ه. ۱۳۸۰. بررسی اثر غنی‌سازی برگ توت با ویتامین E روی کرم ابریشم *Bombyx mori*. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
4. Babu, M., M. T. Swamy, P. K. Rao and M. S. Rao. 1992. Effect of ascorbic acid-enriched mulberry leaves on rearing of *Bombyx mori* L. Indian J. Seric. 31: 11-114.
5. Chapman, R. F. 1998. The Insect Structure and Function. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
6. Das, S. and A. Medda. 1988. Effect of cyanocobalamine on protein and nucleic acid contents of ovary of silkworm, *Bombyx mori* L., during larval, pupal and adult stages of development. Insect Sci. Appl. 9: 641-646.
7. Dobzhenok, N. V. 1974. The effect of ascorbic acid on the physiological condition of the codling moth and its resistance to fungus and bacterial infection. Zakhist Roslin. 19: 3-7.
8. El-karakasy, I. R. and M. Idriss. 1990. Ascorbic acid enhances the silk yield of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. J. Appl. Entomol. 109: 81-86.
9. Etebari, K. and L. Matindoost. 2004. Effects of hypervitaminosis of vitamin B<sub>3</sub> on silkworm biology. J. Biosci. 29(4): 417-422.
10. Etebari, K. and L. Matindoost. 2005. Application of multi-vitamins as nutrients on biological and economical characteristics of silkworm *Bombyx mori* L. J. Asia-Pacific Entomol. 8(1): 1-6.
11. Faruki, S. I., A. R. Khan and A. Mannan. 1992. Fecundity and fertility of the silkworm, *Bombyx mori* L. fed on mulberry leaves supplemented with para-amino benzoic acid. Bangladesh J. Zool. 20: 351-353.
12. Faruki, S. I. 2005. Effect of pyridoxine on the reproduction of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). ISJ. 2: 28-31.
13. Hamamura, Y. 1964. On the feeding mechanism and prepared food of silkworm *Bombyx mori* L. J. Silkworm. 14: 49-56.
14. Horie Y. and T. Ito. 1965. Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*-X. Vitamin B requirements and the effects of several analogues. J. Insect Physiol. 11: 1585-1593.
15. Ito, T. 1978. Silkworm Nutrition. The Silkworm an Important Laboratory Tool. PP. 121-157, In: Tazima, Y. (Ed.), Kodansha Ltd, Tokyo.
16. Khan, A. R. and B. N. Saha. 1996. Nutritive effects of Fe-PLUS® (ferrus fumarate + acid folic) on the silkworm, *Bombyx mori* L. Bangladesh J. Zool. 24: 199-203.
17. Legay, J. M. 1958. Recent advances in silkworm nutrition. Ann. Rev. Ent. 3: 75-86.
18. Nakamura, M. 2000. Homeostasis and physiology on Vitamin B<sub>2</sub> of the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Physiology, Neurosciences, Immunity and Cell Biology Symposium. Abstract Book II – XXI-International Congress of Entomology, Brazil, August 20-26.
19. Nirwani, R. B. and B. B. Kaliwal. 1996a. Effect of Folic acid on economic traits and the change of some metabolic substances of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. Korean J. Seric. Sci. 38: 118-123.
20. Nirwani, R. B. and B. B. Kaliwal. 1996b. Increase of silk production and quantitative changes of carbohydrate and protein in the fat body and haemolymph after feeding potassium sulphate to bivoltine *Bombyx mori* L. Sericologia 36: 523-530.
21. Saha, B. N. and A. R. Khan. 1997. Effect of vertebrate sex-hormones on *Bombyx mori*. Sericologia. 37: 19-25.
22. Sarkar, A., M. Haque, M. Rab and N. Absar. 1995. Effect of Feeding mulberry (*Morus* sp.) leaves supplemented with different nutrients to silkworm, *Bombyx mori* L. Curr. Sci. 69: 185-188.
23. Seki, K. and K. Oshikane. 1959. Res. Reports. Fac. Textile and Sericulture, Shinshu University.
24. Sengupta, K., B. D. Singh and J. C. Mustafa. 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 J. Seric. 11(1): 11-27.