

بررسی آمیخته‌های نسل اول حاصل تلاقی‌های مستقیم و معکوس نژادهای دو و چند نسله کرم ابریشم (*Bombyx mori* L. (Lep., Bombycidae))

ابراهیم طالبی^{۱*}، مریم خادمی^۲، جی. سویرامانیا^۳، ا.ج. بی. ماهشاه^۴

۱- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، ایران

۳- استاد، گروه بیوتکنولوژی کرم ابریشم، دانشگاه میسور، میسور، هندوستان

۴- استاد، گروه بیوتکنولوژی، کالج یواراجا، دانشگاه میسور، میسور، هندوستان

چکیده

در سال ۱۳۸۹ اثر تلاقی‌های مستقیم و معکوس در آمیخته‌های نسل اول (F_1) روی صفات وزن پيله، وزن قشر پيله، درصد قشر پيله، طول الیاف، نسبت پيله به ابریشم خام و شاخص قطر با استفاده از دو نژاد چند نسله Pure Mysore و Nistari و دو نژاد دو نسله C_{108} و NB_4D_2 بررسی شد. این آزمایش به منظور درک کنترل ژنتیکی سیستم آمیخته‌گری بین دو نژاد دو و چند نسله، با استفاده از تلاقی بین ماده نژاد چند نسله و نر نژاد دو نسله و تلاقی معکوس آن‌ها به انجام رسید. دوازده آمیخته به دست آمده در شرایط استاندارد آزمایشگاهی پرورش یافتند. جهت بررسی اثر نوع آمیخته‌گری بر روی شش صفت اقتصادی فوق‌الذکر، داده‌های به دست آمده تجزیه آماری گردید. وزن قشر پيله در آمیخته $C_{108} \times NB_4D_2$ و تلاقی معکوس آن با مقدار ۰/۳۷ گرم دارای بیشترین مقدار و $PM \times Nistari$ با مقدار ۰/۲۰ گرم کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در تلاقی مستقیم بین نژادهای چند نسله و دو نسله، تنها صفت شاخص قطر در آمیخته $PM \times NB_4D_2$ اختلاف بسیار معنی‌داری را نشان داد. در آمیخته‌گری بین نژادهای دو نسله و چند نسله، صفات وزن پيله، وزن قشر پيله، طول الیاف و شاخص قطر اختلاف بسیار معنی‌داری داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد که با استفاده از تلاقی معکوس بین ماده NB_4D_2 با نردو نژاد PM و Nistari صفاتی نظیر وزن پيله، وزن قشر پيله و طول الیاف بهبود قابل ملاحظه‌ای یافت. اما تفاوت معنی‌داری بین تلاقی مستقیم و معکوس نژاد C_{108} با هر دو نژاد PM و Nistari مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: کرم ابریشم، تلاقی مستقیم، تلاقی معکوس

*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: talebi226@iaudarab.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله (۸۹/۱/۲۹) - تاریخ پذیرش مقاله (۸۹/۱۲/۲۳)

مقدمه

کرم ابریشم دومین حشره مهم آزمایشگاهی است که به‌عنوان یک مدل جهت مطالعات مختلف زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سالیان زیادی است که کرم ابریشم به‌دلیل تولید الیاف طبیعی جزو مهمترین و اقتصادی‌ترین حشرات موجود در سراسر دنیا محسوب شده و هم اکنون بخشی قابل توجهی از مردمان بیش از ۳۰ کشور جهان نظیر چین، هندوستان، ژاپن، کره، تایلند، فرانسه، ایتالیا، روسیه، رومانی، بلغارستان، ایران، ترکیه و برزیل به پرورش این حشره اشتغال دارند (Talebi *et al.*, 2010).

هندوستان دومین کشور تولید کننده ابریشم دنیا است که بیش از ۹۵ درصد ابریشم تولیدی خود را توسط استفاده از روش آمیخته‌گری بین نژادهای چند نسله و دو نسله به‌دست می‌آورد (Nagatomo, 1942; Morohoshi, 1949; Nakada, 1970; Tazima, 1988). علی‌رغم اهمیت مطالعه بیشتر و دقیق‌تر روش‌های مختلف آمیخته‌گری جهت استفاده از پدیده هتروسیس اطلاع کمی در ارتباط با آمیخته‌گری معکوس بین نژادهای مختلف کرم ابریشم وجود دارد (Petkov *et al.*, 1977; Mal Reddy *et al.*, 2003; Talebi & Subramanya, 2009b). معکوس دلیل بر وجود اثرات پایه مادری است (Tazima, 1988).

افزایش تولید ابریشم و بهبود کیفیت آن از مهم‌ترین اهداف به‌نژادی در تحقیقات کرم ابریشم است. تولید بهینه این الیاف طبیعی تحت تاثیر بیش از ۲۱ صفت نظیر باروری، درصد نفرخ، وزن لاروی، مدت زمان لاروی و غیره است (Thiagarajan *et al.*, 1993) که هر گونه تلاش در جهت ارتقاء تولید ابریشم مستلزم توجه به سایر صفات و اصلاح برای تولید بیشتر مستلزم اصلاح برای ترکیبی از صفات مطلوب و بررسی تمام عوامل موثر بر تولید می‌باشد. آگاهی از پارامترهای ژنتیکی کنترل کننده تولید ابریشم و صفات موثر بر آن، متخصصین اصلاح نژاد را در گزینش مناسب‌ترین روش اصلاحی و طراحی بهترین روش آمیخته‌گری در جهت استفاده از هتروسیس کمک می‌نماید. نظر به اینکه در این تحقیق از نژادهای دو و چند نسله استفاده گردید، تعیین اثر آمیخته‌گری معکوس در جهت بهره‌گیری از خصوصیات هر دو نژاد و مشخص نمودن اثرات مادری مد نظر بودند.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۸۹ در مزرعه دانشگاه میسور هند اجرا شد. در این تحقیق از دو نژاد دو نسله NB₄D₂ و C₁₀₈ و همچنین دو نژاد چند نسله Nistari و Pure Mysore (PM) موجود در جرم پلاسما گروه بیوتکنولوژی کرم ابریشم استفاده گردید. خصوصیات نژادی و فهرست آمیخته‌های حاصل به ترتیب در جدول ۱ و ۲ ارائه گردیده است:

جدول ۱- خصوصیات نژادی چهار نژاد کرم ابریشم

Table 1- Characteristics of four silkworm races

Strain	Voltinism	Larval pattern	Cocoon color	Cocoon shape
C ₁₀₈	Bivoltine	Plain	White	Oval
NB ₄ D ₂	Bivoltine	Plain	White	Dumbble
Pure Mysore	Multivoltine	Plain	Greenish yellow	Spindle
Nistari	Multivoltine	Marked	Golden yellow	Spindle

جدول ۲- فهرست آمیخته‌های حاصل از تلاقی چهار نژاد کرم ابریشم

Table 2- Regular and reciprocal crosses

Moltivoltine × Bivoltine	Bivoltine × Moltivoltine	Moltivoltine	Bivoltine
Nistari × C ₁₀₈	C ₁₀₈ × PM	PM × Nistari	C ₁₀₈ × NB ₄ D ₂ *
Nistari × NB ₄ D ₂	C ₁₀₈ × Nistari	Nistari × PM	NB ₄ D ₂ × C ₁₀₈
PM × C ₁₀₈	NB ₄ D ₂ × PM		
PM × NB ₄ D ₂	NB ₄ D ₂ × Nistari		

The first parent is always the female

بعد از خوابانیدن تخم‌ها در دمای $25 \pm 10^\circ\text{C}$ و رطوبت $80 \pm 5\%$ آمیخته‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از ۳ تکرار (هر تکرار در یک سینی جداگانه) که بعد از سومین پوست‌اندازی، ۳۰۰ لارو برای هر تکرار تحت شرایط استاندارد (Krishnaswami, 1978) پرورش داده شد. تمامی لاروها با برگ توت وارپته (*Morus indica*) تغذیه گردیدند.

بین ۵ تا ۷ روز بعد از چهارمین پوست‌اندازی و با مشاهده وضعیت لاروها، لاروهای آماده پيله تنی را به Chandrika منتقل شدند و ۵ روز پس از پيله تنی، پيله‌ها جهت رکوردگیری به آزمایشگاه انتقال یافتند. برای ارزیابی عملکرد ژنوتیپ‌ها از شش صفت اقتصادی شامل وزن پيله، وزن قشر پيله، درصد قشر پيله، طول الیاف، شاخص قطر^۱ و نسبت پيله به ابریشم خام^۲ رکود برداری شد. پس از ثبت اطلاعات در بانک اطلاعاتی Excel و تصحیح رکوردهای حاصل از درصد قشر پيله، نسبت به تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS اقدام گردید.

نتایج و بحث

عملکرد آمیخته‌های نسل اول نژادهای چند نسله، چند نسله × دو نسله و دو نسله به‌صورت جفت‌گیری مستقیم و معکوس در جدول ۳ ارایه گردیده است. نتایج حاصل از این تحقیق برای هر صفت به‌صورت جداگانه در زیر آمده است.

وزن پيله: آمیخته‌های C₁₀₈ × NB₄D₂ با ۲/۰۲ گرم بیشترین وزن پيله و Nistari × PM با ۱/۲۹ گرم، کمترین وزن پيله را به خود اختصاص دادند. وزن پيله با مقایسه آمیخته‌های حاصل از تلاقی مستقیم بین NB₄D₂ با PM و Nistari به ترتیب ۱/۶۱ و ۱/۶۲ گرم به‌دست آمد که در مقایسه با آمیخته به‌دست آمده از طریق تلاقی معکوس این مقدار به ترتیب به ۱/۴۳ و ۱/۴۹ گرم کاهش یافت ($P < 0.01$). با توجه به نتایج به‌دست آمده، نژاد NB₄D₂ دارای اثر پایه مادری بر این صفت است. برخی از پژوهش‌گران در تحقیقات خود، تفاوتی معنی‌داری را بین آمیخته‌گری مستقیم و معکوس برای این صفت مشاهده نکردند (Doddaswamy *et al.*, 2009; Ravindra Singh *et al.*, 2006).

وزن قشر پيله: وزن قشر پيله در آمیخته C₁₀₈ × NB₄D₂ و تلاقی معکوس آن با مقدار ۰/۳۷ گرم دارای بیشترین مقدار و Nistari × PM با مقدار ۰/۲۰ گرم کمترین مقدار را به‌خود اختصاص دادند. وزن قشر پيله در آمیخته‌های NB₄D₂ ×

1- (وزن ابریشم به‌دست آمده + طول لیف × ۹۰۰۰) Denier

2- (نسبت بین مقدار پيله به ابریشم خام به‌دست آمده) Renditta

PM و NB₄D₂ × Nistari به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۲۹ گرم به دست آمد که در مقایسه با تلاقی معکوس خود اختلاف بسیار معنی داری را نشان دادند (P<۰/۰۱). در سایر آمیخته‌ها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۳). آمیخته ND₇ × CSR₂ اختلاف معنی داری را بین آمیخته‌گری مستقیم و معکوس خود نشان داد (Ravindra Singh et al., 2006).

درصد قشر پیله: C₁₀₈ × NB₄D₂ و PM × Nistari به ترتیب با ۱۸/۸۸ درصد، بیشترین و ۱۴/۹۱ درصد، کمترین درصد قشر پیله را دارا بودند (جدول ۳). درصد قشر پیله تنها در آمیخته‌گری مستقیم و معکوس بین نژادهای چند نسله Nistari × PM و PM × Nistari اختلاف بسیار معنی داری را نشان داد (P<۰/۰۱).

طول الیاف: C₁₀₈ × NB₄D₂ با ۱۲۸۱/۷ متر، بلندترین و Nistari × PM با ۶۲۳/۷ متر کوتاه‌ترین طول لیف را داشتند. آمیخته‌های NB₄D₂ × Nistari و NB₄D₂ × PM به ترتیب با ۱۰۱۸/۶ و ۸۹۳/۱ متر نسبت به آمیخته‌های حاصل از تلاقی معکوس همین نژادها، اختلاف بسیار معنی داری (P<۰/۰۱) را نشان دادند (جدول ۳).

نسبت پیله به ابریشم خام: تنها در آمیخته Nistari × NB₄D₂، نسبت پیله به ابریشم خام با رکورد ۹/۱۳، تفاوت بسیار معنی داری را با آمیخته‌گری مستقیم نشان داد و C₁₀₈ × NB₄D₂ با مقدار ۶/۵۳ کمترین و PM × Nistari با رکورد ۹/۴۰ بیشترین مقدار این صفت را دارا بودند.

شاخص قطر: به جزو آمیخته‌های نژاد دو نسله، اختلاف بسیار معنی داری در مقدار این صفت بین برخی از آمیخته‌های حاصل از تلاقی مستقیم و معکوس سایر نژادها دیده شد. در نژاد چند نسله، Nistari × PM شاخص قطر با مقدار ۲/۳۷ در مقایسه با آمیخته PM × Nistari (۲/۰۴) اختلاف بسیار معنی داری را نشان داد. بین آمیخته‌گری مستقیم C₁₀₈ × PM و PM × NB₄D₂ و تلاقی معکوس آنها نیز اختلاف بسیار معنی داری دیده شد (P<۰/۰۱).

آمیخته‌های حاصل از تلاقی نژادهای مختلف: هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی داری بین آمیخته‌گری مستقیم و معکوس نژاد دو نسله دیده نشد (P>۰/۰۱). دلیل این امر، ساختمان ژنتیکی مشابه جنس نر و ماده در این نژاد و حضور ژن‌های L^m در هر دو جنس است. نتایج دیگر پژوهش‌گران تایید کننده این دو دلیل می‌باشد (Ravindra Singh et al., 2006; Mal Reddy et al., 2003). آمیخته‌های حاصل بیشترین رکورد برای تمامی صفات پیله را دارا بودند اما به دلیل مقاومت کم نسبت به بیماری‌ها و یا تولید کمتر در شرایط نامناسب پرورشی، استفاده از نژادهای چند نسله در آمیخته‌گری آنها توصیه می‌گردد.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین و اختلاف آماری برای صفات مختلف پیله در آمیخته‌های نسل اول (جدول ۳) حاصل از نژادهای چند نسله، استفاده تجاری از این آمیخته‌ها به دلیل باروری پایین و تولید نامناسب اقتصادی توصیه نمی‌گردد.

در تولید آمیخته‌های تجاری از تلاقی مستقیم بین ماده نژادهای چند نسله و نر دو نسله استفاده می‌شود. برخی محققین بر این باورند که تلاقی معکوس بین آنها موجب افت صفات تولیدی نظیر وزن پیله، وزن قشر پیله، درصد قشر پیله و

غیره می‌شود (Tazima, 1988). براساس مطالعات Mal Reddy *et al.* 2003 تلاقی معکوس بین این دو نژاد باعث بهبود باروری و کاهش زمان پيله روری می‌شود. برخی از پژوهش‌گران نیز بر ترکیب‌پذیری عمومی مناسب نژاد NB_4D_2 تاکید و نشان دادند که صفات وزن پيله، وزن قشر پيله و طول الیاف تحت تاثیر اثرات افزایشی ژن‌ها می‌باشد (Doddaswamy *et al.*, 2009; Talebi & Subramanya, 2009a). همچنین این محققین نشان دادند که ترکیب‌پذیری خصوصی برای تمامی صفات به جز صفات شاخص قطر و نسبت پيله به ابریشم خام بسیار معنی‌دار می‌باشد که این موضوع دلالت بر ناچیز بودن سهم واریانس غالبیت (V_D) در کل واریانس ژنتیکی (V_G) دارد.

سپاسگزاری

این تحقیق با مساعدت مدیریت گروه بیوتکنولوژی کرم ابریشم، دانشگاه میسور هند و همکاری پرسنل آن انجام گردید و نویسندگان مراتب سپاس خود را به دلیل فراهم بودن امکانات اجرایی پژوهش ابراز می‌دارند.

Table 3- Mean value of F₁ progenies for six quantitative traits

Voltinism	Hybrids	Cocoon weight (gm)	Shell weight (gm)	Shell ratio (%)	Filament length (m)	Renditta	Denier
Bivoltine	C ₁₀₈ × NB ₄ D ₂	1.99 ± 0.02	0.37 ± 0.004	18.88 ± 0.25	1281.7 ± 44.6	6.53 ± 0.23	2.02 ± 0.07
	NB ₄ D ₂ × C ₁₀₈	2.02 ± 0.04	0.37 ± 0.005	18.35 ± 0.24	1250.1 ± 54.3	7.08 ± 0.25	1.97 ± 0.06
Multivoltine	PM × Nistari	1.38 ± 0.02	0.20 ± 0.003	14.91 ± 0.30 ^b	667.3 ± 24.4	9.40 ± 0.38	2.04 ± 0.29 ^b
	Nistari × PM	1.29 ± 0.04	0.21 ± 0.007	15.99 ± 0.33 ^a	623.7 ± 22.6	8.05 ± 0.40	2.37 ± 0.38 ^a
Bivoltine × Multivoltine	C ₁₀₈ × PM	1.62 ± 0.02 ^{ab}	0.29 ± 0.007 ^a	18.55 ± 0.32	781.0 ± 27.5 ^{bc}	7.36 ± 0.25 ^{cd}	2.60 ± 0.09 ^a
	C ₁₀₈ × Nistari	1.56 ± 0.02 ^{bc}	0.29 ± 0.007 ^a	18.30 ± 0.29	893.3 ± 28.5 ^b	7.39 ± 0.23 ^{cd}	2.16 ± 0.05 ^{bcd}
	NB ₄ D ₂ × PM	1.61 ± 0.02 ^{ab}	0.28 ± 0.005 ^a	17.80 ± 0.23	893.1 ± 27.8 ^b	8.88 ± 0.39 ^{ab}	1.90 ± 0.05 ^d
	NB ₄ D ₂ × Nistari	1.62 ± 0.02 ^{ab}	0.29 ± 0.004 ^a	18.04 ± 0.16	1018.6 ± 22.5 ^a	6.96 ± 0.24 ^{cd}	2.10 ± 0.07 ^{bcd}
Multivoltine × Bivoltine	PM × C ₁₀₈	1.67 ± 0.04 ^a	0.30 ± 0.005 ^a	18.04 ± 0.29	871.1 ± 25.2 ^b	8.03 ± 0.45 ^{abc}	2.26 ± 0.07 ^{bc}
	PM × NB ₄ D ₂	1.43 ± 0.03 ^{de}	0.24 ± 0.004 ^b	17.40 ± 0.32	719.8 ± 12.2 ^{cd}	8.20 ± 0.29 ^{abc}	± ./. ₹ ^{bc} ¥/¥¥ 2.22 ± 0.04 ^{bc}
	Nistari × C ₁₀₈	1.58 ± 0.03 ^{abc}	0.28 ± 0.006 ^a	17.60 ± 0.19	877.7 ± 23.6 ^b	7.81 ± 0.35 ^{bcd}	2.16 ± 0.13 ^{bcd}
	Nistari × NB ₄ D ₂	1.49 ± 0.03 ^{cd}	0.25 ± 0.005 ^b	17.12 ± 0.33	804.5 ± 20.4 ^{bc}	9.13 ± 0.38 ^{ab}	1.86 ± 0.04 ^d

Means having the same superscript letters do not differ significantly (P<0.01).

References

- Doddaswamy, M.S., Subramanya, G. and Talebi, E. 2009.** Studies on some economic traits and biological characters of regular and reciprocal cross between a multivoltine and bivoltine race of the silkworm *Bombyx mori*. J. of Ento. and Nemat., 1(4): 050-055.
- Krishnaswami, S. 1978.** New technology of silkworm rearing. Bulletin No. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India: 23.
- Mal Reddy, N., Basavaraja, H. K., Dar, A. K., Suresh Kumar, N. and Dandin, S. B. 2003.** Studies on sex-linked inheritance of quantitative characters in direct and reciprocal crosses of silkworm, *Bombyx mori* L. Int. J. Indust. Entomol., 7(1): 15-20.
- Morohoshi, S. 1949.** Developmental mechanism in *Bombyx mori*. Meibundo, Japan.
- Nagatomo, T. 1942.** On the inheritance of voltinism in silkworm. J. Seric. Sci. Japan., 13:114-115.
- Nakada, T. 1970.** Research on the sex-linked inheritance of the cocoon weight of reciprocal crossing. J. Fac. Agric. Hokkaido Univ., 57(1): 41-50.
- Petkov, N., Jolov, A. and Yankov, A. 1977.** Effects of reciprocal crossing on *Bombyx mori* L. silk productivity. Genet. Sel., 10(1): 70-76.
- Ravindra Singh, Basavaraja, H. K., Kariappa, B. K., Raghavendra Rao, D., Rama Mohana Rao, P., Premalatha, V. and Gangopadhyay, D. 2006.** Reciprocal effect in F₁ hybrids between multivoltine and bivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 45(2): 176-180.
- SAS, SAS/ETS, 2004.** User's Guide, version 9.1th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, Vol. 1, pp: 2170.
- Talebi, E. and Subramanya, G. 2009 a.** Diallel analysis of bivoltine and multivoltine races for six quantitative traits. Ozean Journal of Applied Sciences, 2(3): 327-335.
- Talebi, E. and Subramanya, G. 2009 b.** Genetic distance and heterosis through evaluation index in the silkworm, *Bombyx mori* (L.). World Applied Sciences Journal, 7(9): 1131-1137.
- Talebi, E., M. Khademi and Subramanya, G. 2010.** Application of Biometrical Genetics in Mulberry Silkworm Breeding: A Review. Int. J. Pure Appl. Sci. Technol., 1(2): 42-59.
- Tazima, Y. 1988.** A view point on the important Mysore breeds. Proceedings of Int. Cong. on tropical Sericulture Practices, Feb 18-23: 1-5.
- Thiagarajan, V., Bhargava, S. K., Rameshbabu, M. and Nagaraj, B. 1993.** Difference in seasonal performance of 26 strains of silkworm, *Bombyx mori* (Bombycidae). Journal of Lepidopteran Society, 47: 321 - 337.

A study on straight and reciprocal crossing in F₁ hybrids using bivoltine and multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. (Lep., Bombycidae) races

E. Talebi^{1*}, M. Khademi², G. Subramanya³, H. B. Mahesha⁴

1-

2- Islamic Azad University, Darab Branch, 74817-83143, Darab, Fars, Iran

3- DOS in Sericulture and Seri biotechnology Science, University of Mysore, Mysore, India

4- Department of Biotechnology, Yuvaraja's College, University of Mysore, Mysore, India

Abstract

The effects of straight and reciprocal crossing on F₁ hybrids were estimated on six quantitative traits viz., cocoon weight, shell weight, shell ratio, filament length, denier and renditta in the silkworm, *Bombyx mori* L. utilizing two bivoltine races and two multivoltine races namely NB₄D₂, C₁₀₈, Nistari and Pure Mysore, respectively. In order to understand the genetics of cross breeding system between multivoltine and bivoltine races, a hybridization experiment was conducted by crossing females of multivoltine races (Pure Mysore and Nistari) with males of bivoltine races (C₁₀₈ and NB₄D₂) and its reciprocals during 2009. The twelve straight and reciprocal hybrids were reared under standard laboratory condition. The data of the hybrids was analysed for the estimation of six economical traits to study the crossing effects, between the hybrids. The straight and reciprocal crossing of C₁₀₈ × NB₄D₂ has shown maximum cocoon weight (0.37 gr) whereas PM × Nistari has recorded minimum cocoon weight (0.2 gr) among the hybrids. Superiority of strait crosses between multivoltine and bivoltine races only have been shown for denier trait in PM × NB₄D₂ hybrid. In bivoltine × multivoltine hybrids, characters such as cocoon weight, shell weight, filament length and denier showed high significant difference.

Key words: *Bombyx mori*, Reciprocal crossing, Straight crossing

*Corresponding Author, E-mail: talebi226@iaudarab.ac.ir

Received: 18 Apr. 2010 - Accepted: 14 Mar. 2011

