

## Vigor híbrido en cruzamientos de líneas endocriadas de gusanos de seda (*Bombyx mori* L.)

Basso, C.P.<sup>1</sup>\*; Bartoloni, N.<sup>2</sup>; Dobler, S.<sup>1</sup>; Gallo, G.<sup>1</sup>; Furlan, I.<sup>3</sup>; Valverde, A.<sup>1</sup>; Garcia Pruitt, M.<sup>1</sup> y Reyna, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina.

<sup>2</sup>Departamento de Métodos Cuantitativos. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina.

<sup>3</sup>Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina.

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Mejoramiento genético.  
Heterosis.  
Capullos de seda.  
Producción de seda.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Genetic Improvement.  
Heterosis.  
Silk Cocoon.  
Silk production.

### INFORMACIÓN

Cronología del artículo.  
Recibido/Received: 11.05.2015  
Aceptado/Accepted: 05.07.2016  
On-line: 15.10.2016  
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:  
cbasso@agro.uba.ar

### INTRODUCCIÓN

El gusano de seda *Bombyx mori* es un insecto de la familia bombycidae, orden Lepidóptera, el orden más

### RESUMEN

Se evaluaron características productivas de híbridos, originados del cruzamiento de una línea FA-UBA y otra de origen europeo. Se midieron 3 variables cuantitativas: largo y peso de los capullos enteros y de los capullos sin pupa. También se determinó el peso de 20000 capullos, el porcentaje de seda bruta y el peso de seda por telaino. Los datos fueron analizados por ANOVA y se realizaron comparaciones múltiples para cada variable analizada. Se encontraron diferencias altamente significativas entre medias de genotipos (razas e híbridos) para todas las variables analizadas. Para los tres caracteres estudiados el efecto de heterosis fue muy marcado. Para longitud del capullo (mm) se observaron las siguientes diferencias: 30,2 promedio parental vs. 36,05 el híbrido directo, y 34,53 el híbrido recíproco. Para Peso del Capullo Entero (g) 1,17 promedio parental vs. 1,57 el híbrido directo, y 1,54 el híbrido recíproco. Para Peso de la Corteza, 0,21 promedio parental vs. 0,30 el híbrido directo y 0,29 el híbrido recíproco. El porcentaje de seda bruta se ubica en los rangos para la especie (16 a 24 %) pero el promedio de los híbridos resultó superior a la media de los padres. Los híbridos produjeron un 39% más seda que la media de los padres. Se concluye que el cruzamiento de las dos líneas utilizadas presentó un marcado efecto de heterosis para todas las variables analizadas.

### Hybrid vigor in the crossing of inbred lines of silkworms (*Bombyx mori* L.)

### SUMMARY

Productive characteristics of hybrids, from the crossing of a FA-UBA line and other one of a European origin, have been assessed. Three quantitative variables have been measured: length and weight of the entire cocoon and of the cocoons without pupa. Weight and silk weight of 20000 cocoons and raw silk percentage were also determined. This data was analyzed through ANOVA and several comparisons were performed for each variable analyzed. For all the variables tested, highly significant differences were found between genotype media (breeds and hybrids). For the three features tested, the heterosis effect was very strong. For the cocoon length (mm) the differences were of following: 30.2 parental average vs. 36.05 the direct hybrid and 34.53 the reciprocal hybrid. For the entire cocoon weight (g): 1.17 parental average vs. 1.57 the direct hybrid and 1.54 the reciprocal hybrid. For the bark weight: 0.21 parental hybrid vs. 0.30 the direct hybrid and 0.29 the reciprocal hybrid. The raw silk percentage was between the species ranges (16 to 24%) but the hybrid average turned to be higher than the parents average. The hybrids silk production was 39% higher than the parents production media. In conclusion, the crossing of the two lines used showed strong heterosis effect for all the variables analyzed.

grande de la clase Insecta. Es holometábolo y presenta una metamorfosis completa desde huevo hasta la etapa de adulto. En Argentina la producción de seda es una actividad reintroducida y de desarrollo incipiente ya

que fue desestimada hace décadas, luego de la segunda Guerra Mundial en la que el país exportaba hilo de seda para la confección de paracaídas. Actualmente es llevada a cabo por pequeños productores como actividad complementaria de otras. Es prácticamente inexistente la producción de huevos con calidad, productividad y sanidad garantizada y los pocos productores que se dedican a esta actividad multiplican sus propias progenies para la obtención de huevos para la siguiente generación, con los inconvenientes que esto genera (Acerbi *et al.*, 2005), en particular por el aumento de la consanguinidad que determina la depresión en la productividad. En la producción del gusano de seda la utilización del *vigor híbrido*, originado en el cruzamiento de dos o más líneas puras, comenzó a principios del siglo pasado en la mayoría de los países desarrollados (Kumar *et al.*, 2008).

Según Cifuentes y Sohn (1998), una línea pura de gusano de seda es una unidad con características homogéneas procedente de crías consanguíneas. Estas razas puras de gusano de seda son patrimonio exclusivo del país que las genera y son mantenidas con mucho celo en ambientes bien protegidos (Martos Tupes, 2010).

Martos Tupes (2010) recopiló resultados productivos de líneas puras e híbridos en países productores de seda que además cuentan con planes de mejoramiento genético, haciendo notar la importancia de la obtención de híbridos por las diferencias en los rendimientos a favor de éstos últimos.

Diversos autores a nivel mundial destacan la importancia del mejoramiento genético en el gusano de seda, destacando como objetivos principales los de mejorar la productividad y calidad del hilo de seda, la adaptación a las condiciones ambientales locales y resistencia y/o tolerancia a enfermedades (Li *et al.*, 2001; Sen *et al.*, 1999).

La productividad y calidad del hilo de seda está determinado por el nivel de heterosis del híbrido involucrado (Kumar *et al.*, 2004); así, los híbridos más productivos son aquellos que originan capullos más pesados y con mayor contenido de seda. Los países que poseen programas de desarrollo de sericultura más avanzados, atribuyen los mayores niveles de productividad al uso de híbridos con mayor producción de seda en cantidad y calidad (Malik *et al.*, 2006). Numerosos autores determinaron un alto nivel de heterosis en híbridos de gusanos de seda para la mayoría de los caracteres biológicos y productivos relacionados con la cantidad de seda, así como distinta aptitud combinatoria de las diferentes líneas utilizadas (Bhargava *et al.*, 1993; Choudary and Singh 2006; Grekov, 2003; Kariappa and Rajan, 2004; Kumar *et al.*, 2008; Nirupama *et al.*, 2008; Petkov *et al.*, 2004 a y b; Seshagiri *et al.*, 2009; Tsenov *et al.*, 2010). Otros investigadores comprobaron mayores niveles de productividad con la utilización de híbridos en la producción comercial de seda (Choudary and Singh, 2006; Dayananda and Rao, 2009; Kariappa and Rajan, 2004; Nirupama *et al.*, 2008; Petkov and Petkov, 2006). En Argentina, Basso *et al.* (2014) en cruzamientos preliminares, encontraron heterosis sobredominante para caracteres de importancia económica, como el

peso del capullo entero, el de la corteza y el porcentaje de seda bruta, para la mayoría de los cruzamientos y heterosis dominante para el resto.

El objetivo del presente trabajo es evaluar algunas características productivas de un híbrido y su recíproco, originados a partir del cruzamiento de una línea endocriada en la Facultad de Agronomía de la UBA y otra recibida recientemente, de origen europeo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló entre octubre y diciembre de 2014. Se utilizaron 2 líneas, una obtenida por endocria en la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, denominada Rayada (R) y otra de reciente incorporación obtenida por intercambio, denominada NEGRA (N) y los 2 cruzamientos entre ellas ( $\sigma$ NEGRA  $\times$   $\phi$ RAY y  $\sigma$ RAY  $\times$   $\phi$ NEGRA) criados en condiciones de temperatura y humedad controladas ( $22,0 \pm 1,6$  °C y  $72,7 \pm 9,3\%$ , respectivamente); condiciones medias que se verifican en varias regiones de la Argentina y se corresponden con el rango óptimo para la época de cría requerido por este insecto.

El ensayo comenzó con la incubación de los huevos, que para cada tratamiento fueron alojados en cajas de plástico en un ambiente con una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , una Humedad Relativa del  $80\% \pm 10$  y un fotoperíodo de 18 hs diarias de luz y 6 hs de oscuridad, hasta el momento de eclosión de las larvas. Posteriormente las larvas fueron alojadas en cajas plásticas con fondo recubierto con papel absorbente. Se realizaron 3 repeticiones de cada línea y cruzamiento distribuidas al azar en estanterías en el galpón de cría. La alimentación se realizó 4 veces al día (8:30, 12, 15 y 18 h) con hojas de moreras (*Morus alba* L.) frescas, cosechadas diariamente en los horarios mencionados, cuya composición química promedio fue la siguiente: materia seca, 25,25 %; nitrógeno total: 3,65%; proteína cruda: 22,83; grasas: 2,86%; carbohidratos solubles: 7,19%.

A medida que las larvas fueron creciendo, se las pasó de las cajas de plástico a camas de madera más grandes, siempre respetando la ubicación en las estanterías. Hacia el final del período larval se colocaron dispositivos específicos, denominados rodalinas, en los cuales los gusanos tejieron los capullos y luego de 10 días de iniciado el encapullado se procedió a la cosecha de los mismos para las evaluaciones previstas. Sobre una muestra de 30 capullos para cada línea y cruzamiento se midieron 3 variables cuantitativas: largo en mm de los capullos (L); peso en g de los capullos enteros (CE) y de los capullos sin pupa y exuvia (corteza) (C). También se calculó a partir de los resultados obtenidos el peso de 20000 capullos frescos, que se corresponde a la producción de un telaino (unidad de comercialización que contiene 20000 huevos); el porcentaje de seda bruta, resultado del cociente entre el peso de la corteza y el del capullo entero y el peso de seda (corteza) obtenida por telaino.

El diseño experimental utilizado fue un diseño en tres bloques completos aleatorizados (repeticiones) con 120 cajas en el bloque 1, y 100 cajas en los bloques 2 y 3. Los datos obtenidos fueron analizados mediante Análisis de Variancia para cada una de las varia-

bles analizadas con el genotipo como factor principal y asumiendo en el modelo que no existía interacción bloque×genotipo.

Los datos fueron analizados por Anova (Montgomery, 2004) con los genotipos (líneas endocriadas e híbridos) como el efecto principal y se realizaron comparaciones múltiples (test Tukey) para cada variable analizada.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para el largo de los capullos se encontraron diferencias altamente significativas (al 1%) entre medias de genotipos (G) (razas e híbridos); diferencias altamente significativas (al 1%) entre medias de repeticiones (REP) y asimismo la Interacción G×R resultó altamente significativa (al 1%).

En la **tabla I** se presentan las diferencias entre las medias de las tres variables que resultaron significativas con un nivel del 5% (Grupos homogéneos test Tuckey).

En la **figura 1** se puede visualizar la naturaleza de la Interacción G×R la cual, para esta variable, no obscurece la interpretación principal: los híbridos presentan promedios superiores a las razas que los generaron,

**Tabla I.** Significación estadística de las diferencias entre las medias de las tres variables estudiadas (nivel del 5%) (Grupos homogéneos test Tuckey) (Statistical significance of the differences between the means of the three variables studied (level 5%) (Homogeneous groups Tuckey test).

Genotipo	LC	PCE	PC
Rayadas	30,18 <sup>a</sup>	1,06 <sup>c</sup>	0,21 <sup>a</sup>
Negro	30,25 <sup>a</sup>	1,29 <sup>b</sup>	0,21 <sup>a</sup>
RxN	34,49 <sup>b</sup>	1,55 <sup>a</sup>	0,29 <sup>b</sup>
NxR	35,96 <sup>c</sup>	1,56 <sup>a</sup>	0,30 <sup>c</sup>

LC: largo del capullo; PCE: peso del capullo entero; PC: peso de la corteza.  
 Ref.: letras iguales indican diferencias no significativas (al 5%) entre las medias involucradas.

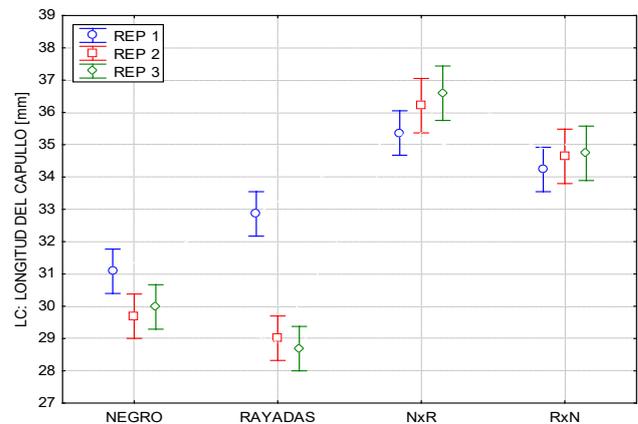
teniendo el híbrido directo (N×R) una media superior al recíproco R×N).

Para el peso del capullo entero (CE) se encontraron diferencias altamente significativas (al 1%) entre medias de genotipos (G) (razas e híbridos); diferencias significativas (al 5%) entre medias de repeticiones (R) y la interacción G×R también fue significativa (al 5%).

En la **figura 2** se puede visualizar la naturaleza de la Interacción G×R la cual, tampoco para esta variable obscurece la interpretación principal: los híbridos presentan promedios superiores a las razas que los generaron, teniendo el híbrido directo (N×R) una media ligeramente superior al recíproco (R×N).

Para el peso de la corteza de los capullos (C) también se encontraron diferencias altamente significativas (al 1%) entre medias de genotipos (G) (razas e híbridos);

diferencias significativas (al 5%) entre medias de repeticiones (R) y la Interacción G×R resultó altamente significativa (al 1%).



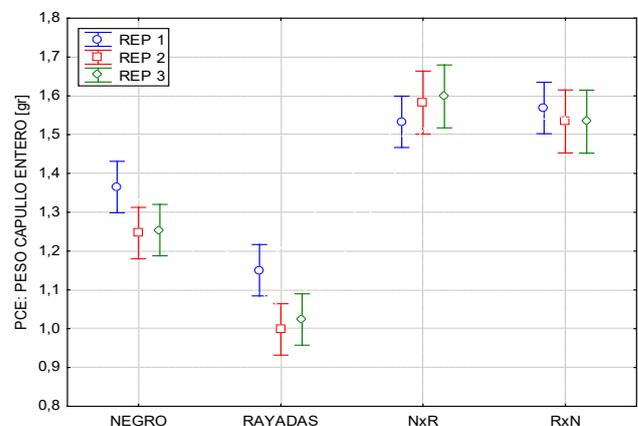
**Figura 1.** Largo de los capullos de cada una de las líneas endocriadas y sus híbridos; para cada una de las tres repeticiones (REP) (Length cocoons each of the inbred lines and hybrids; for each of the three repetitions (REP)).

En la **figura 3** se observa que para el peso de la corteza (C) los híbridos también presentan promedios superiores a las razas que los generaron, teniendo el híbrido directo (N×R) una media ligeramente superior al recíproco (R×N).

En las **tablas III, IV y V** se muestran los resultados del Análisis de Variancia de los tres genotipos y las tres repeticiones para cada una de las variables estudiadas.

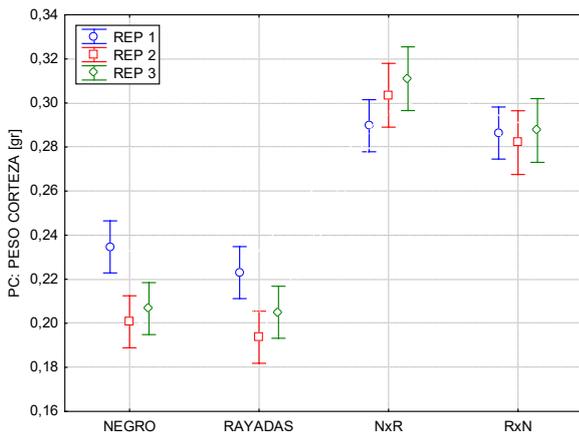
Para los tres caracteres estudiados puede observarse un efecto de la línea N como madre dado que el híbrido directo resulta consistentemente más rendidor que el híbrido recíproco, en el cual la línea materna es R.

El efecto de heterosis es muy marcado para los tres caracteres. Para la longitud del capullo se observaron las siguientes diferencias: 30,2 mm de promedio parental vs. 36,05 mm para el híbrido directo, y 34,53 mm para el híbrido recíproco. Para el peso del capullo entero, 1,17 g de promedio parental vs. 1,57 g para el híbrido directo, y 1,54 g para el



**Figura 2.** Peso de los capullos enteros de cada una de las líneas endocriadas y sus híbridos; para cada una de las tres repeticiones (REP) (Weight of whole cocoons each inbreds and their hybrids; for each of the three repetitions (REP)).

híbrido recíproco. Y para el peso de la corteza, 0,21 g de promedio parental vs. 0,30 g para el híbrido directo, y 0,29 g para el híbrido recíproco. Estos resultados concuerdan con los de numerosos autores que determinaron un alto nivel de heterosis en híbridos de gusanos de seda para la mayoría de los caracteres biológicos y productivos relacionados con la producción de seda, así como distinta aptitud combinatoria de las diferentes líneas utilizadas (Bhargava *et al.*, 1993; Choudary and Singh 2006; Grekov, 2003; Kariappa and Rajan, 2004; Kumar *et al.*, 2008; Nirupama *et al.*, 2008; Petkov *et al.*, 2004 a y b; Seshagiri *et al.*, 2009; Tsenov *et al.*, 2010).



**Figura 3.** Peso de la corteza de los capullos de cada una de las líneas endocriadas y sus híbridos; para cada una de las tres repeticiones (REP) (Weight of shell cocoons each of the inbred lines and hybrids; for each of the three repetitions (REP)).

El rendimiento productivo, calculado a partir de los resultados obtenidos y expresados como peso fresco (en kg) de 20.000 capullos, derivado de la cría de un telaino (20.000 huevos) fue marcadamente superior en los híbridos y se adjudica al efecto de la heterosis (tabla II). El porcentaje de seda bruta se ubica dentro de los rangos para la especie (16 a 24 %) y el promedio de los híbridos resultó superior a la media de los padres (tabla II). Cuando se calcula la cantidad de seda producida por telaino, los híbridos produjeron un 39% más de seda que la media de los padres (tabla II). Estos resultados concuerdan con los indicados por otros investigadores que comprobaron mayores niveles de productividad con la utilización de híbridos en

**Tabla II.** Rendimiento de un telaino (20.000 capullos) calculado a partir de los resultados obtenidos, expresado como peso de capullo fresco, en kg; contenido de seda bruta (en %) y cantidad total de seda (en kg) (performance of a telaino (20,000 cocoon) calculated from the results obtained, expressed as weight of fresh cocoon in kg; raw silk content (in%) and silk quantity total (kg)).

Genotipo	Peso fresco (kg) 20.000 capullos	Seda bruta (%)	Seda/telaino (kg)
Negra	25,7	16,6	4,26
Rayada	21,1	19,6	4,13
Negra x Rayada	31,3	19,1	5,97
Rayada x Negra	31,0	18,4	5,70

**Tabla III.** Resultados del análisis de variancia de tres genotipos y tres repeticiones para la variable largo de capullo (LC) (Results of Analysis of Variance three genotypes and three replications for variable length cocoon (LC)).

	SC	GL	CM	F	Valor p
GENOTIPO (G)	1952,39	3	650,80	143,71	0,0001
BLOQUE (B)	85,65	2	42,83	9,46	0,0002
Error	1422,01	314	4,53		
Total	3557,77	319			

**Tabla IV.** Resultados del análisis de variancia de tres genotipos y tres repeticiones para la variable peso del capullo entero (PCE) (Results of analysis of variance three genotypes and three replications for variable weight of whole cocoon (PCE)).

	SC	GL	CM	F	Valor p
GENOTIPO (G)	13,57	3	4,52	130,30	0,0001
BLOQUE (B)	0,31	2	0,15	4,42	0,0128
Error	10,90	314	0,03		
Total	25,25	319			

**Tabla V.** Resultados del análisis de variancia de tres genotipos y tres repeticiones para la variable peso del capullo sin pupa (PC) (Results of Analysis of Variance three genotypes and three replications for variable weight of shell cocoon (PC)).

	SC	GL	CM	F	Valor p
GENOTIPO (G)	0,52	3	0,17	151,21	0,0001
BLOQUE (B)	0,01	2	0,005	5,27	0,0056
Error	0,36	314	0,0011		
Total	0,91	319			

la producción comercial de seda (Kumar *et al.*, 2004; Choudary and Singh 2006; Dayananda and Rao, 2009; Kariappa and Rajan, 2004; Nirupama *et al.*, 2008; Petkov and Petkov, 2006).

En el gusano de seda, al igual que en otras especies animales y vegetales, el fenómeno de hibridación es el más frecuente al utilizar variedades mejoradas. A mayor diferencia genotípica entre las líneas o variedades, mayor es el efecto de heterosis. Por ello es necesario generar líneas endocriadas y comprobar su capacidad combinatoria; el orden en que se realizarán los cruza-mientos y verificar la interacción con el ambiente de crianza comercial, a fin de obtener los híbridos deseados y adaptados a las condiciones agroecológicas locales (Cifuentes y Sohn (1998). Los resultados obtenidos en el presente ensayo, para las tres variables analizadas, muestran la existencia de vigor híbrido en el cruzamiento de las dos líneas endocriadas utilizadas, ya sea en el híbrido directo como en su recíproco; sin embargo, cuando la línea rayada se utiliza como madre el vigor híbrido es algo mayor. Estos resultados concuerdan con los informados por los diversos autores citados. Asimismo, el rendimiento productivo de los híbridos, expresado como peso fresco de los capullos (1,54-1,57 g) resultó igual o superior a los mencionados

por Martos Tupes (2010) para India (1,42-1,58 g) pero inferiores a los de Corea del Sur (2,11-2,14 g).

La importancia de estos resultados radica en que la productividad y calidad del hilo de seda dependen fundamentalmente de la calidad del híbrido involucrado (Kumar *et al.*, 2004) y que en aquellos países que poseen programas de desarrollo de sericultura más avanzados, los mayores niveles de productividad son atribuidos al uso de híbridos (Malik *et al.*, 2006).

## CONCLUSIONES

Los cruzamientos de las dos líneas utilizadas presentaron un marcado efecto de heterosis para todas las variables analizadas, lo que se traduce en una mayor producción de seda para los híbridos, que fue en promedio un 39% superior a la media de los padres. En los cruzamientos recíprocos, la línea Negra cuando es empleada como madre el híbrido presenta mayor nivel de heterosis. Los resultados obtenidos confirman que la productividad del hilo de seda depende fundamentalmente del mejoramiento genético para lograr genotipos superiores como es la utilización de híbridos. Los resultados obtenidos alientan a realizar nuevos cruzamientos con otras líneas endocriadas disponibles con el objeto de identificar aquellos donde se exprese el efecto de heterosis y cuyos resultados productivos superen a los de las variedades e híbridos utilizados actualmente. Asimismo, los resultados obtenidos demuestran que es necesario generar líneas endocriadas y comprobar su capacidad combinatoria; el orden en que se realizarán los cruzamientos y verificar la interacción con el ambiente de crianza comercial, a fin de obtener los híbridos deseados y adaptados a las condiciones agroecológicas locales.

## NOTA DE LOS AUTORES

Este trabajo forma parte del Proyecto de Investigación UBACyT - PDTs PG04: *Obtención de huevos o semilla de híbridos y variedades mejoradas de gusanos de seda para contribuir a abastecer la demanda actual y potencial de productores de capullos e hilo de seda.*

## BIBLIOGRAFÍA

Acerbi, M.A.; Mozeris, G. y Vieites, C. M. 2005. Análisis FODA del sistema sericícola argentino. *Rev Facultad de Agronomía*, 25: 31-39.  
 Basso, C.P.; Dobler, S.; Lopez Zieher, X. y Bartoloni, N. 2014. Híbridos y líneas endocriadas de gusanos de seda (Lepidoptera: Bombyx mori L.): resultados productivos preliminares. *In Vet*, 16: 31-38.  
 Bhargava, S.K.; Thiagarajan, V; Data, R.K. 1993. Hybrid vigour in the silkworm, *Bombix mori* (L). *Giornale Italiano di Entomologia*, 6: 449-453.  
 Cifuentes, C. A. y K. W. Sohn. 1998. Manual técnico de sericultura: cultivo de la morera y cría del gusano de seda en el trópico. Convenio SENA – CDTS. Pereyra- Colombia.

Choudary, N. and Singh, R. 2006. Heterosis in relation to combining ability in hybrids between multivoltine and bivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Uttar Pradesh J Zool*, 26: 23-28.  
 Dayananda and Rao, P. 2009. In-house evaluation of nex bivoltine hybrids of silkworm, *Bombix mori* L. Under large scale testing. *Uttar Pradesh J Zool*, 29: 51-56.  
 Grekov, D. 2003. A study on the principles of inheritance of productive traits in reciprocal silkworm hybrids (*Bombyx mori* L.) with participation of lines. *Zhivotnovdni Nauki*, 40: 110-113.  
 Kariappa, B.K and Rajan, R.K. 2004. Development of multivoltine silkworm breeds/hybrids in India for commercial exploitation. *Indian J Seric*, 25: 261-264.  
 Kumar, N.; Basavaraja, H.; Joge, P.; Kalpana, G. and Reddy, N. 2008. Heterosis studies on hybrids on cocoon sex-limited breed of the silkworm, *Bombyx mori* L. under different environments of temperature. *J Entomol Res Soc*, 10: 1-12.  
 Kumar, N.; Basavaraja, H.; Gowda, B.; Joge, P.; Kalpana, G.V; Reddy, N. and Kiarappa, B.K. 2004. Effect of high temperature and high humidity on the post cocoon parameters of parents, foundation crosses, single and double hybrids of bivoltine silkworm, *Bombix mori* L. *Indian J Seric*, 42: 162-168.  
 Li, M.; Yao, W.; Hou, Q.; Lin, C. Q.; Chen, K. P. 2001. Studies of some special characters in the silkworm, (*Bombyx mori* L.) germplasm in China. *Sericologia*, 41: 527-535.  
 Malik, G.N.; Rufaie, S.Z; Baqual, M.F; Kamili, A; Dar, H.U. 2006. Comparative performance of some bivoltine silkworm (*Bombix mori* L.) hybrids. *Entomon*, 31: 61-64.  
 Martos Tupes, A. 2010. Evaluación morfológica, biológica y rendimiento en capullo y fibra de seda de líneas e híbridos F1 de gusano de seda, *Bombix mori* L. *Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Trujillo, Perú.*  
 Montgomery, D.C. 2004. Design and analysis of experiments. 6th ed. Wiley. NY.  
 Nirupama, R.; Singh, R.; and Kamble, C. 2008. Identification of silkworm breeds and hybrids through evaluation indices and cocoon size variability. *Indian J Seric*, 47: 183-187.  
 Petkov, N. and Petkov, Z. 2006. Study of heterosis and its components at silkworm (*Bombix mori* L.) Hybrids with participation of genetically sex-marked at larva stage lines. II Silkworm pupation rate and productivity of fresh cocoon. *Zhivotnovdni Nauki*, 43: 41-45.  
 Petkov, N.; Petkov, Z.; Natcheva, Y.; Grekov, D. and Arnaudova, K. 2004a. An analysis of heterosis and vigour and its components in silkworm (*Bombyx mori* L.) hybrids, created from sex-limited lines. I. Technological characters of cocoon. *J Genet Breed*, 33: 37-43.  
 Petkov, N.; Petkov, Z.; Natcheva, Y.; Grekov, D. and Arnaudova, K. 2004b. An analysis of heterosis and vigour and its components in silkworm (*Bombyx mori* L.) hybrids, created from sex-limited lines. IV. Productivity of cocoons and raw silk. *J Genet Breed*, 33: 49-53.  
 Sen, R.; Ahsan, M. M. and Datta, R. K. 1999. Induction of resistance to *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus, into a susceptible bivoltine silkworm breed. *Indian J Seric*, 38: 107-112.  
 Seshagiri, S.; Ramesh, C. and Rao, C. 2009. Genetic manifestation of hybrid vigor in cross breeds of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Int J Zool Res*, 5: 150-160.  
 Tsenov, P.; Vasileva, J. and Pantaleeva, D. 2010. Silk shell fibroin content heterosis expression in Bulgarian F- silkworm *Bombix mori* L. Hybrids. *Indian J Seric*, 49: 110-114.