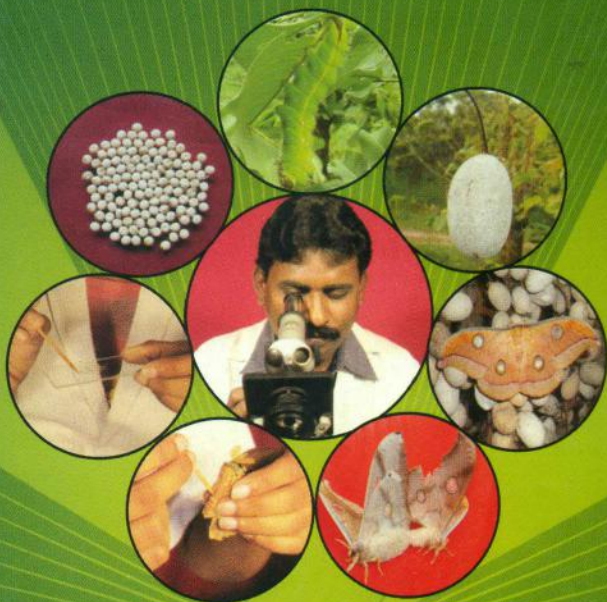


वर्ष 2012
Year 2012

प्रसार बुलेटिन
Extension Bulletin

मातृ तसर रेशमकीट का पेब्रीन परीक्षण Tasar Silkworm Mother Moth Examination



केन्द्रीय तसर अनुसंधान एवं प्रशिक्षण संस्थान
केन्द्रीय रेशम बोर्ड
वस्त्र मंत्रालय, भारत सरकार
राँची - 835 303 (झारखण्ड)

Central Tasar Research and Training Institute
Central Silk Board
Ministry of Textiles, Govt. of India
Ranchi - 835 303 (Jharkhand)

मातृ रेशमकीट का पेब्रीन परीक्षण

पेब्रीन की पहचान की उन्नत विधि

- मातृ रेशमकीट को अंडे देने के 72 घंटे बाद लें।
- मातृ रेशमकीट के एब्डोमेन के नीचे के बीच का भाग (4 से 7वें खंड) भाग को कैंची से काटकर मोर्टार खाने में रखें।
- इसमें 5 मिली. 0.5% K_2CO_3 डालें तथा पेस्टल से अच्छी तरह से पीसें जिससे नोसीमा स्पोर विभिन्न कोशिकाओं से आसानी से अलग हो जाये।
- इस मातृ रेशमकीट के रस को छानने के लिए एक सेंट्रीफ्यूज ट्यूब में डालें तथा 4000 rpm पर 5 मिनट तक सेंट्रीफ्यूज करें।
- सेंट्रीफ्यूज ट्यूब से ऊपर के पानी जैसे द्रव्य को निकाल दें तथा नीचे तली में जमे पदार्थ में 5-6 बूंद 2% KOH का घोल मिला कर घोलें।
- इस घोल में से लकड़ी की तीली की सहायता से एक बूंद लेकर साफ कांच की स्लाइड पर रखें तथा कवर स्लिप से ढँकें।
- सूक्ष्मदर्शी में (15X x 40X) में कम-से-कम 5 क्षेत्र देखें।
- अगर स्लाइड में चावल के आकार के अंडे की तरह के चमकीले हल्के नीले रंग के पेब्रीन स्पोर दिखे तो उस मातृ रेशमकीट द्वारा दिये अंडों को तुरंत जलाकर नष्ट कर दें।
- जिस स्लाइड में पेब्रीन स्पोर नहीं दिखे उस मातृ रेशमकीट द्वारा दिये अंडों को रोगमुक्त घोषित कर आगे कीटपालन के लिए प्रयोग करें।

Tasar Silkworm Mother Moth Examination for Pebrine

Modified Method of Mother Moth Examination

- Mother moths are collected after 72 hrs of egg laying from egg laying device.

Schematic Illustration of Modified Method of Mother Moth Examination



Equipments required



Moth collection in paper box



Cutting of abdominal portion



Placing in composite mortar



Addition of 0.5% K_2CO_3 Solution



Homogenization



Cotton for filtering



Pipetting Homogenization



Filtrate in centrifuge tubes



Centrifugation



Arrangement of filtrate after centrifugation



Discard of supernatant



Addition of 2% KOH solution



Smear on slide



Cover slip on smear



Microscopic examination

- Lower middle portion of individual mother moth (4 to 7 segments) is cut with the help of scissors and place in a cavity of mortar.
- 5 ml of 0.5% K_2CO_3 is added to it, for easy separation of *Nosema* spores from different tissues.
- Material is crushed thoroughly with pestle to homogenize the mixture.

- To filter the homogenized mixture, add a bit of cotton in the mortar, pipette out the homogenate with the help of dropper and take in 1.5 ml centrifuge tube.
- Filtered smear is centrifuged at 4000 rpm for 5 minutes.
- The supernatant is discarded and 5-6 drops of 2% KOH solution is added to sediment, which dissolves fat globules and makes the observation easy.
- One drop of dissolved sediment is put on the glass slide, cover with cover slip and examine under the 600 X magnification (eye piece 15 X and objective piece 40 X) of compound microscope.
- In each slide at least five microscopic fields are to be examined.
- In the slide if rice grain size, oval shaped, bluish bright pebrine spores are observed, the entire eggs laid by that mother moth is considered pebrinised and are rejected.
- Slide having no *Nosema* spores indicative of disease freeness and the egg laid by the moths are retained as disease free laying (dfl) for rearing.

छेदन विधि द्वारा मातृ रेशमकीट में पेब्रीन का परीक्षण

P₁ केन्द्र को कीटपालन के लिए बहुत अधिक मात्रा में वाणिज्यिक बीज का उत्पादन तथा वितरण करना होता है। इसलिए ऐसी स्थिति में अलग-अलग सेंट्रीफ्यूज द्वारा परीक्षण करना संभव नहीं है। ऐसी स्थिति में पेब्रीन परीक्षण के लिए छेदन विधि की अनुशंसा की जाती है।

विधि

- स्लाइड पर 0.5% या K_2CO_3 या 2% KOH घोल की एक बूंद तीली या ड्रोपर से रखें।
- मातृ रेशमकीट को अंडे देने से 72 घंटे बाद लें।
- बाएं हाथ में मातृ रेशमकीट का पृष्ठ भाग ऊपर की ओर कर अंगूठा तथा बीच की उंगली के बीच पकड़ें।
- दूसरे हाथ से लगभग 3 से 4 से.मी. लम्बी एक तीली एब्डोमेन के तीसरे तथा चौथे खंड के बीच में छेदें तथा अन्दर घुमायें जिससे शारीरिक द्रव्य तीली से चिपक आए।
- तीली को बाहर निकालें तथा शारीरिक द्रव्य को स्लाइड पर रखे एवं 0.5% K_2CO_3 या 2% KOH घोल के साथ मिलायें तथा कवर स्लिप से ढँक दें।

- सूक्ष्मदर्शी में (15X x 40X) में कम-से-कम 5 क्षेत्र देखें।
- एक तीली को एक ही बार प्रयोग करें जिससे संक्रमण न हो तथा परीक्षण खत्म होने पर अंडा बक्सों के साथ जला कर नष्ट कर दें।
- अगर स्लाइड में चावल के दाने की तरह चमकीले हल्के नीले रंग के पेब्रीन स्पोर दिखे तो ऐसे कीटाणु समूह को मादा तितली सहित तुरंत जला कर नष्ट कर दें।
- जिस स्लाइड में पेब्रीन स्पोर नहीं दिखे वैसे अंड समूहों को रोगमुक्त घोषित कर कीटपालन के लिए प्रयोग करें।

Prick Method of Mother Moth Examination

P₁ units are processing voluminous amount of seed cocoons for producing commercial seed. For such a large number of cocoons Modified Centrifuged Mother Moth Examination technique is practically not feasible, therefore mother moth examination by Prick Method has been suggested to cater the need of commercial seed.

Procedure

- Place a drop of 0.5% K₂CO₃ (or) 2% KOH on the slide with the help of the stick/dropper.
- Mother moths are collected after 72 hours of oviposition.
- Hold out the mother moth with the help of thumb, index and middle finger of one hand such that the dorsal portion of the abdomen faces up-wards.
- Pierce a tooth pick up to 3-4 cm in length with other hand into the 3-4 inter segmental region and rotate inside the abdomen to smear it with body fluid.
- Take out the stick and mix the body fluid with the previously dropped 0.5% of K₂CO₃ (or) 2% KOH on the slide.
- Cover the smear with cover slip and observe under microscope at 600 X magnification.
- One stick is to be used only once to avoid contamination and later used sticks are burnt with diseased layings and moths at the end of examination.
- In each slide at least five microscopic fields are to be examined.

- In the slide if rice grain size, oval shaped, bluish bright pebrine spores are observed, the entire eggs laid by that mother moth are considered pebrinised and rejected.
- Slide having no *Nosema* spores are indicative of disease free and the eggs laid by the moth are retained as disease free laying for rearing.

Schematic Illustration of Prick Method of Mother Moth Examination



Moth collection in paper box



Add a drop of 0.5% K₂CO₃ (or) 2% KOH on slide



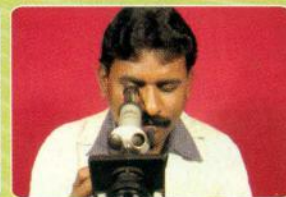
Prick the mother moth



Put the smear on slide



Cover slip on smear



Microscopic examination

विशेष जानकारी हेतु सम्पर्क करें

डॉ. बी. सी. प्रसाद

निदेशक

केंद्रीय तसर अनुसंधान एवं प्रशिक्षण संस्थान, राँची

फोन : 0651 - 2775815, 2910239

फैक्स : 0651 - 2775629

निर्माता

डॉ. के. पी. किरण कुमार

डॉ. जी. पी. सिंह एवं डॉ. ए. के. सिन्हा