



Respon Empat Ras Ulat Sutera Terhadap *Bombyx mori* Nuclear Polyhedrosis Virus (*BmNPV*)

SITTI NURAENI¹, NURAEDAH M², DJAMAL SANUSI¹

¹Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10 Makassar 90245
email: nuraenisitti@gmail.com

²Balai Penelitian Kehutanan Makassar
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 16,5 Sudiang 90243

ABSTRAK

Penyakit graseria disebabkan oleh nuclear polyhedrosis virus (NPV) merupakan salah satu penyakit penting pada ulat sutera. Penyakit graseria dapat menurunkan bahkan dapat menggagalkan panen kokon. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon empat ras ulat sutera terhadap infeksi NPV. Inokulasi dilakukan pada awal instar III dengan metode oles pada daun murbei berukuran 2 x 4 cm². Konsentrasi larutan *BmNPV* sebagai isolat yang digunakan adalah 1 x 10⁷ polyhedron/ml. Hasil penelitian menunjukkan masa inkubasi *BmNPV* pada ras PBE mulai pada hari ke-3 - ke-14 hsi, ras bivoltin (N1, N2 dan BC 107) pada hari ke-5 - ke-15 hsi. Mortalitas tertinggi terjadi pada hari ke-10 hsi atau instar V. Ras N1, N2 dan BC 107 kecuali PBE ngengatnya masih dapat meletakkan telur dan termasuk kategori tahan. Infeksi *BmNPV* dapat menurunkan fekunditas ulat sutera meskipun daya tetas dapat mencapai 90%. Virus *BmNPV* dapat ditransmisikan dari induk ulat sutera yang terinfeksi dengan jumlah polyhedron yang berkisar antara 3 – 8 PIB tiap butir telur. Hasil penelitian ini dapat dijadikan referensi untuk memilih bahan persilangan bibit ulat sutera.

Kata Kunci: *BmNPV*, respon ras, ulat sutera *Bombyx mori* L.

PENDAHULUAN

Ada beberapa penyakit penting yang dapat menggagalkan panen kokon ulatsutera pada setiap periode pemeliharaan. Selain penyakit pebrin yang disebabkan oleh protozoa, beberapa penyakit muskardin yang disebabkan oleh jenis-jenis cendawan tertentu dan penyakit yang juga cukup ditakuti oleh petani sutera adalah penyakit graseria atau penyakit nanah yang disebabkan oleh virus. Persuteraan alam global mengalami kehilangan hasil kokon lebih dari 50% akibat *BmNPV* (Subbaiah, *et al.*, 2012) atau sekitar 70 – 80% dari total kehilangan hasil (Yup-lian, 1991; Babu, *et al.*, 2005).

NPV merupakan salah satu penyakit ulatsutera yang paling merugikan di Asia Tenggara, termasuk Indonesia dan Vietnam. Pada tiap periode pemeliharaan ulatsutera tidak luput dari serangan penyakit tersebut. Intensitas serangan NPV pada sentra-sentra pemeliharaan ulatsutera di Sulawesi Selatan dapat mencapai 42,5 – 73,9% bahkan dapat

menggagalkan total produksi kokon yang akan di panen (Anwar, 1985).

Bibit ulatsutera yang beredar di petani Sulawesi Selatan yang direkomendasikan adalah hanya yang diproduksi oleh Perum Perhutani di Kabupaten Soppeng yang menunjukkan kualitas bibit yang semakin menurun dengan harga yang semakin mahal. Selain dari Perum Perhutani Soppeng sumber bibit lain yang ada adalah dari Perum Perhutani Candirotto Jawa Tengah, tetapi nampaknya belum dapat beradaptasi baik untuk dipelihara di Sulawesi Selatan.

Bibit induk yang ada di Sulawesi Selatan cukup banyak, yaitu lebih dari 40 ras dari berbagai negara asal yang dapat dijadikan bibit komersil untuk petani. Potensi bibit tersebut untuk dijadikan bibit melalui uji coba persilangan telah banyak dilakukan namun bibit yang unggul yang tahan terhadap penyakit belum banyak dilakukan. Demikian pula halnya dengan studi tentang penyakit NPV ini masih terbatas pada pengamatan di



lapangan. Pengujian beberapa ras induk ulatsutera terhadap respon atau resistensi terhadap penyakit ini belum banyak dilakukan.

METODE

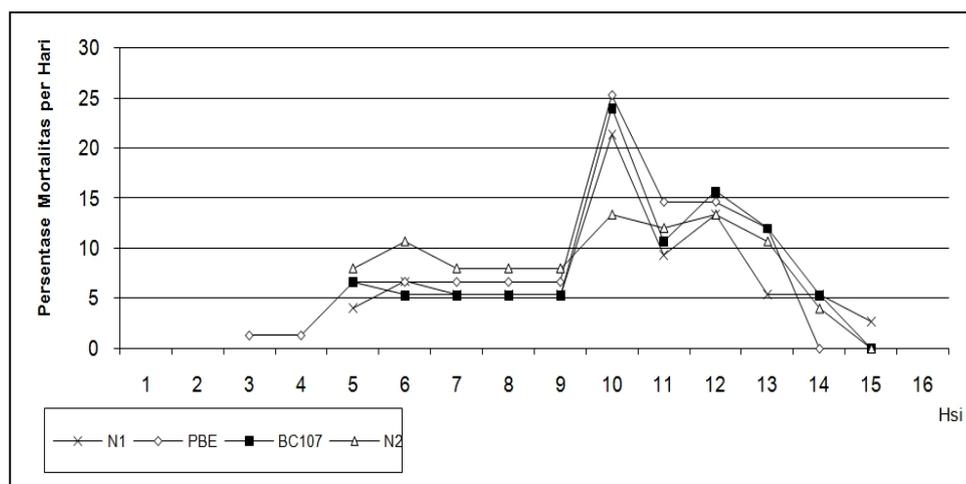
Isolasi dan Pemurnian *BmNPV*. Isolasi *BmNPV* diambil dari sampel larva/ulat yang sakit dari pemeliharaan petani di Kabupaten Soppeng dan Enrekang. Identifikasi dilakukan dengan membedah usus dan haemolim di bawah mikroskop cahaya untuk memastikan patogen virus NPV. Pemurnian *BmNPV* dilakukan dengan menggerus dalam mortar. Hasil gerusan dilarutkan dalam air distilasi dan disaring. Hasil saringan disentrifuse pada 5000 rpm selama 10 menit. Endapan hasil sentrifug dioleskan pada objek gelas dan diamati di bawah mikroskop pada perbesaran minimal 1000x (Kumar dan Naik, 2012). Konsentrasi larutan *BmNPV* sebagai isolat yang digunakan adalah 1×10^7 polyhedron/ml.

Inokulasi *BmNPV*. Ras ulatsutera yang diuji adalah ras Jepang bivoltin (N1 dan N2), ras Cina bivoltin (BC107) dan ras polivoltin tropis (PBE). Inokulasi dilakukan dengan cara mengoleskan larutan *BmNPV* sebanyak 0,1 ml pada daun murbei yang telah disiapkan. Ukuran daun yang digunakan yaitu 2 cm x 4 cm sedangkan untuk kontrol daun dioleskan

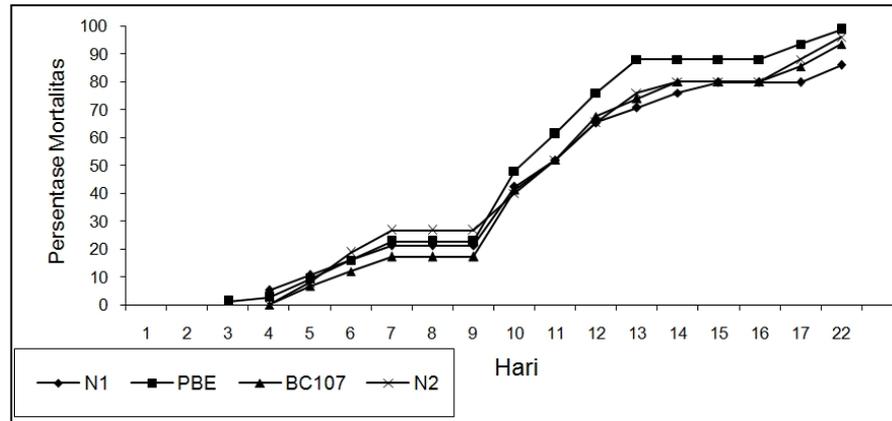
dengan aquades. Sebelum pemberian makan daun yang telah dioleskan dan telah kering udara dilakukan pelaparan larva yang akan diuji selama 30 menit. Inokulasi dilakukan pada larva instar III sebanyak 400 ekor larva dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Pemeliharaan dilakukan sesuai standar pemeliharaan JICA (1985). Pengamatan yang dilakukan terhadap masa inkubasi, tingkat mortalitas, fekunditas, daya tetas telur dan polyhedron dalam telur serta gejala penyakit. Masa inkubasi *BmNPV* dalam tubuh larva ulatsutera dihitung sejak hari inokulasi sampai kematian ulat/pupa/ngengat. Tingkat mortalitas ulat dan pupa setelah inokulasi *BmNPV* dihitung dengan menggunakan Persamaan Abbott (Abbott, 1925).

HASIL

Masa inkubasi yang diamati pada beberapa ras induk ulatsutera yang diuji dapat dilihat pada Gambar 1 dan tingkat mortalitas setelah inokulasi pada Gambar 2. Daya tahan larva sampai ngengat ditampilkan pada Tabel 1. Fekunditas dan daya tetas telur setelah inokulasi pada Tabel 2, sedangkan karakter ras ulatsutera yang diuji pada Tabel 3.



Gambar 1. Masa inkubasi dan persentase mortalitas per hari setelah inokulasi *BmNPV*.



Gambar 2. Tingkat mortalitas pada fase larva sampai ngengat setelah inokulasi *BmNPV*.

Tabel 1. Daya tahan larva, pupa dan ngengat setelah inokulasi *BmNPV*.

Ras Ulat Sutera	Daya Tahan Larva (%)	Daya Tahan Pupa (%)	Daya Tahan Ngengat (%)
N1	26,66 ^a	21,33	13,33 ^a
BC107	20,00 ^{ab}	14,67	6,67 ^b
N2	20,00 ^{ab}	12,00	4,00 ^b
PBE	12,00 ^b	6,67	1,33 ^b

Keterangan :Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata pada taraf $\alpha = 0,01$ menurut uji BNJ

Tabel 2. Fekunditas induk yang terinfeksi *BmNPV* dan daya tetas telurnya.

Ras Ulat sutera	Jumlah Telur yang Diletakkan		Daya Tetas Telur dari ngengat yang diinfeksi <i>BmNPV</i> (%)
	Ngengat Sehat	Ngengat yang diinfeksi <i>BmNPV</i>	
N1	431	219	90,41
N2	344	68	85,29
BC107	320	133	86,46
PBE	299	0	0



Gambar 3. Larva instar V yang terinfeksi *BmNPV* (gambar kiri) dan polyhedra perbesaran 400x (gambar kanan)



Tabel 3. Karakteristik ras ulat sutera yang diuji dengan *BmNPV*

Ras Ulatsutera	Karakter larva	Bentuk Kokon	Warna kokon	Asal Bibit
N1	<i>Crescent</i> jelas	Kacang tanah	Putih	Jepang
N2	Polos	Kacang tanah	Putih	Cina
PBE	<i>Crescent</i> jelas	Oval	Putih	Lokal
BC 107	Polos	bulat	Putih	Cina

PEMBAHASAN

Masa Inkubasi Penyakit. Masa inkubasi semua ras ulatsutera yang diuji dimulai pada hari ke-3 (PBE) dan 3 ras lainnya pada hari ke-5 setelah inokulasi (Gambar 1). Perkembangan serangan penyakit lebih lanjut menunjukkan kecenderungan yang hampir sama pada semua ras induk yang diuji, yaitu tingkat serangan tertinggi terlihat pada saat larva baru bangun dari moulting keempat masuk ke fase larva instar terakhir atau awal instar V (pengamatan hari ke-10). Kematian larva karena *BmNPV* umumnya terjadi pada periode 2 - 9 hari setelah larva menelan NPV (Bell dan Romine, 1980; Moscardi, 1988). Menurut Tanada dan Kaya (1993), larva-larva lepidoptera yang terinfeksi NPV biasanya tidak memperlihatkan gejala luar selama 2 – 5 hari setelah terinfeksi. Gejala baru jelas nampak setelah adanya perubahan larva menjadi agak kekuning-kuningan. Larva ini menjadi kurang aktif antara 12 -13 hari, tapi pada strain yang virulen kematian dapat terjadi hanya 2 – 4 hari setelah infeksi.

Masa inkubasi NPV dipengaruhi oleh beberapa faktor dan berhubungan dengan replikasi partikel virus. Lama masa inkubasi virus tergantung pada jumlah inokulum dan suhu. Jika konsentrasi inokulum virus konstan, semakin tinggi suhu maka semakin singkat masa inkubasi. Jika suhu konstan, konsentrasi inokulum virus rendah maka semakin lama masa inkubasi. Masa inkubasi virus pada serangga bervariasi yaitu 4 hari sampai 3 minggu setelah infeksi (Smith dan Lauffer, 1953). Pada serangga ordo lepidoptera, biasanya masa inkubasi 5 hari sampai 7 hari (Steinhaus, 1963). Rata-rata suhu udara sekitaran selama penelitian pagi hari 28 °C siang hari 33 °C dan pada sore hari 29 °C.

Tingkat Mortalitas dan Daya Tahan Larva sampai Ngengat. Tingkat mortalitas

ras ulatsutera yang diuji mulai dari fase larva, pupa sampai ngengat, terlihat bahwa mortalitas yang terjadi setiap hari cenderung mengikuti kurva sigmoid (Gambar 2). Khurad *et al.*, (2004), mortalitas larva pada setiap instar dapat terjadi dan umumnya pada instar IV dan V mortalitas meningkat antara 20 – 50 %. Pengamatan mortalitas ulatsutera berbanding terbalik terhadap daya tahannya, semakin tinggi tingkat mortalitasnya semakin rendah penilaian daya tahannya. Meskipun ketiga bibit yang diuji dapat melewati proses metamorfosis sampai menjadi ngengat bahkan meletakkan telur, akan tetapi tingkat mortalitas setiap fase (larva, pupa dan ngengat) tetap tinggi.

Penilaian ras ataupun galur ulatsutera yang baik dapat dilihat dari dua segi yaitu daya tahan hidup dan produktivitas kokon. Daya tahan hidup ulat dapat ditentukan oleh kemudahan memelihara seperti pertumbuhan ulat seragam dan daya tahan terhadap penyakit, sedangkan produktivitas kokon dapat ditentukan oleh kuantitas dan kualitas kokon yang dihasilkan (Omura, 1980). Penilaian daya tahan hidup ulat dapat dilihat pada parameter jumlah telur yang diletakkan (keperidian), daya tetas telur, daya tahan terhadap penyakit. Daya tahan setiap fase di bawah dari 50 %. Kemampuan larva bertahan dan bermetamorfosa menjadi pupa kemudian menjadi ngengat tertinggi pada ras N1 dan yang sangat rentang pada ras PBE tidak ada yang jadi ngengat.

Ketahanan ulatsutera ditentukan oleh beberapa faktor. Watanabe (2002), menyatakan ada dua faktor yang mempengaruhi tingkat kerentanan ulatsutera terhadap virus yaitu: a). Faktor internal, sifat ketahanan atau kerentanan virus yang sangat ditentukan oleh umur larva, pergantian kulit, metamorfosis dan proses diapause yang



semuanya dikontrol oleh poligen: b). Faktor eksternal yang sangat ditentukan oleh proses infeksi, suhu, bahan kimia dan makanan baik pakan alami maupun pakan tambahan. Faktor utama yang berpengaruh pada ketahanan bibit induk ulatsutera yang diuji adalah faktor internal, yaitu umur larva pada saat diinfeksi masih kategori ulat kecil yang lebih rentan terhadap infeksi patogen. Ekspresi penyakit atau masa inkubasi dengan tingkat serangan tertinggi nampak setelah larva berganti kulit (moulting) kedua setelah inokulasi dan gejala masih tampak sampai bermetamorfosis jadi pupa dan ngengat. Faktor eksternal pada penelitian ini, mulai dari proses infeksi (konsentrasi dan umur isolat), suhu, desinfektan dan pakan adalah perlakuannya sama.

Daya tahan yang rendah pada setiap fase disebabkan masa inkubasi dari *BmNPV* ini lebih panjang. Menurut Gothama (1990), jika masa inkubasi virus lebih lama, maka persentase ulat yang jadi ngengat rendah bahkan biasanya ulat yang terinfeksi tidak sampai mengokon. Ditambahkan pula bahwa walaupun ada yang mengokon, maka bentuk pupanya mengkerut. Jika ada yang sampai menjadi ngengat maka biasanya kondisi ngengatnya abnormal seperti sayap yang rusak, memendek. Ngengat yang terinfeksi apabila diperiksa pada organ reproduksi ngengat tersebut akan dijumpai banyak partikel virus.

Keperidian dan Persentase Daya Tetas Telur. Infeksi *BmNPV* pada induk ulatsutera cenderung dapat menurunkan jumlah telur yang diletakkan walaupun daya tetasnya masih dapat mencapai 90%. Telur-telur yang diletakkan oleh induk ulatsutera yang terinfeksi *BmNPV* jika diperiksa dibawah mikroskop maka akan dijumpai partikel virus. Jumlah polyhedron dalam sampel telur berkisar antara 3 – 8 PIB tiap butir telur.. Khurad *et al.*, (2004), NPV dapat ditransmisikan secara vertikal, yaitu dari induknya diturunkan ke generasi berikutnya melalui telur yang diletakkan. Selanjutnya dijelaskan persilangan antara dua induk yang

salah satu induknya terinfeksi *BmNPV* akan menghasilkan telur yang mengandung PIB dari *BmNPV* dengan kisaran polyhedra antara $0,9 - 2,32 \times 10^7$.

Gejala Penyakit. Gejala luar yang tampak pada bibit ulatsutera yang sakit akibat *BmNPV* adalah berkurangnya selera makan dari ulat, ulatsutera selalu bergerak mondar-mandir, terjadinya pembengkakan tubuh di antara ruas-ruasnya (Gambar 3). Gejala yang lebih lanjut adalah kutikulanya menjadi rapuh, haemolimpnya menjadi keruh atau putih seperti susu, bila kutikulanya pecah akan keluar semua cairan tubuhnya yang berwarna putih seperti "nanah" dengan demikian ulatnya mati dan menjadi sumber infeksi. Disebut sebagai penyakit nanah karena gejala ulatsutera yang terserang oleh virus *Borrelina bombycis* P adalah ulatsutera yang pecah akan mengeluarkan cairan berwarna putih susu dan berbau busuk seperti nanah pada saat ulatsutera mati. Penyakit ini lebih merugikan petani karena gejala dan matinya ulatsutera biasanya terjadi pada akhir instar V atau pada saat dipindahkan ke alat pengokonan. Kerugian petani tidak hanya kehilangan hasil panen kokon tetapi juga kerugian waktu, pakan, bahan desinfektan tenaga pemeliharaan namun yang lebih penting adalah ulat yang mati karena virus ini akan menjadi sumber infeksi bagi ulat yang masih sehat dan bagi pemeliharaan berikutnya.

Penyakit NPV bahkan lebih merugikan petani disebabkan ulatsutera yang sakit, akan terus aktif makan daun murbei. Gejala penyakit NPV baru terlihat setelah ulat matang siap mengokon dan segera mati berjatuh sebelum menghasilkan kokon. Petani tidak mendapatkan garansi bibit, kehilangan waktu, tenaga dan daun murbei tanpa mendapatkan hasil kokon.

Karakteristik Ras dan Prospek Pengembangan. Balai Persuteraan Alam saat ini mempunyai lebih 40 ras bibit induk murni ulatsutera (*Grand Parent*) yang berasal dari Jepang, Cina, India, Rusia, Rumania dan jenis tropis. Masing-masing ras yang ada memiliki karakteristik yang berbeda. Menurut



Atmosoedardjo *dkk*, (2000), karakter ulatsutera ras China umumnya putih polos, kokonnya berbentuk bulat sampai lonjong dan juga berwarna putih; sedang ulatsutera ras Jepang tanda *crescent*nya lebih jelas atau lebih dikenal tanda bintik dengan kokon berbentuk menyerupai kacang tanah.

Tingkat mortalitas atau kemampuan bertahan sampai dapat menghasilkan telur yang merupakan penilaian bagaimana respon induk ulatsutera ras N1, BC107, N2 dan PBE terhadap infeksi *BmNPV*. Tanada dan Kaya (1993); Sivaprasad *et al.*, (2003), ulatsutera yang termasuk kategori sangat tahan apabila mampu bertahan sampai jadi ngengat bahkan sampai menghasilkan telur. Ras N1, BC107, N2 kecuali PBE merupakan ras yang dapat dijadikan bahan persilangan untuk bibit ulatsutera. Pemanfaatan bibit ulatsutera dari ras bivoltin telah menjadi bagian penting dalam industri persuteraan alam. India negara kedua pemasok serat sutera dunia yang sebagian wilayah pengembangan persuteraan alamnya mirip dengan Indonesia juga banyak mengembangkan potensi ras bivoltin untuk bibit ulatsuteranya (Singh and Kumar, 2010; Dayananda *et al.*, 2011; Gangwar, 2011; Rahmathulla *et al.*, 2011; Mal Reddy *et al.*, 2012; Suresh *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari beberapa variabel pengamatan pada penelitian ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Masa inkubasi *BmNPV* pada ras PBE dimulai pada hari ketiga hsi sampai hari ke-14 hsi dan ras bivoltin (N1, N2 dan BC 107) dimulai pada hari kelima hsi sampai hari ke-15 hsi.
2. Mortalitas tertinggi terjadi pada hari ke-10 hsi atau pada instar V pada inokulasi instar III.
3. Ras N1, N2 dan BC 107 kecuali PBE ngengatnya masih dapat meletakkan telur dan termasuk kategori tahan.
4. Infeksi *BmNPV* dapat menurunkan fekunditas ulatsutera meskipun daya tetas dapat mencapai 90%

5. Virus *BmNPV* dapat ditransmisikan dari induk ulatsutera yang terinfeksi dengan jumlah polyhedron yang berkisar antara 3 – 8 PIB tiap butir telur.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol* 18: 265-267.
- Anwar, A. 1985. Laporan kegiatan Seksi Hama dan Penyakit 1983/1984. Proyek Kerjasama Pembinaan Alam. ATA – 72. Japan International Cooperation Agency. pp. 34 - 37.
- Atmosoedarjo S, Kartasubrata J, Kaomini M, Saleh W, Moerdoko W, Pramoedibyo dan Ranoeprawiro S. 2000. Sutera Alam Indonesia. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya p. 337.
- Babu SM, Gopaldaswamy G and Chandramohan N. 2005. Identification of an antiviral principle in *Spirulina platensis* against *Bombyx mori* Nuclear Polyhedrosis Virus (*BmNPV*). *Indian Journal of Biotechnology* 4: 384-388.
- Bell VS and Romine CL. 1980. Tobacco Budworm Field Evaluation of Microbioal Control in Cotton Using *Bacillus thuringiensis* and A Nuclear Polyhedrosis Virus with A Feeding Adjuvant. *J. Econ. Entomol* 73: 427 – 430.
- Dayananda SB, Kulkarni, Rao PRM, Gopinath OK and Kumar SN. 2011. Evaluation and selection of superior bivoltine hybrids of the silkworm *Bombyx mori* L. for tropics through large scale in house testing. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 1(3):16-22.
- Gangwar SK. 2011. Screening of popular bivoltine silkworm (*Bombyx mori* Linn.) hybrid breeds of West Bengal in Monsoon and Autumn seasons of Uttar Pradesh climatic condition. *Asian J. Ex. Biol. SCI* 2(4): 704-714.
- Gothama AAA. 1990. Pengenalan *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (*HaNPV*). Balai penelitian Tembakau dan Tanaman Serat



- dan Proyek Pengembangan Perlindungan Tanaman Perkebunan, Direktorat Jenderal Perkebunan, Departemen Pertanian.
- [JICA] Japan International Cooperation Agency, 1985. Proyek Pengembangan Persuteraan Alam di Indonesia. Buku Pelengkap Audio Visual p. 77.
- Khurad AM, Mahulikar A, Rathod MK, Rai MM, Kanginakudru S and Nagarajuc J. 2004. Vertical transmission of *nucleopolyhedrovirus* in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Invertebrate Pathology* 87: 8–15.
- Kumar KP and Naik SS. 2012. Identification of suitable BmNPV (*Bombyx mori*) Nuclear Polyhedrosis Virus) tolerant silkworm breeds for disease resistance breeding. *International Journal of Integrative sciences, Innovation and Technology*. 1(2): 6-13.
- Mal Reddy, Nimmanapalli, Sundaramoorthy NK, Rehman A, Begum N, Moorthy SM, Qadri SMH. 2012. Performance of bivoltine silkworm hybrids of *Bombyx mori* L. involving parental foundation crosses of different generation. *International Journal of Research in Zoology* 2 (1): 1-5.
- Moscardi F. 1988. Possibilities of Using Entomopathogens in Cotton IPM in Indonesia. *FAO* p.60.
- Omura S. 1980. *Silkworm Rearing*. Fuji Publishing Co.ltd, Tokyo, Japan. Pp. 84 – 94.
- Rahmathulla VK, CMK Kumar, A Manjula and V Sivaprasad. 2011. Effect of different season on crop performance of parental stock races of bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.). *Mun. Ent. Zool* 6(2): 886-892.
- Singh H and. Kumar NS. 2010. On the Breeding of Bivoltine Breeds of the Silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), Tolerant to High Temperature and High Humidity Conditions of the Tropics. *Hindawi Publishing Corporation Psyche*. p. 15.
- Sivaprasad V. Chandrashekharaiiah C, Ramesh, Misra S, Kumar KP, and Rao YUM, 2003. Screening of silkworm breeds for tolerance to *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV). *Int. J. Indust. Entomol* 7, 87-91
- Smith KM and Lauffer A, 1953. *Advances Invirus Research*. Volume I. *Academic Press Inc. Publisher* New York. Pp. 93 – 131.
- Steinhaus EA. 1963. *Insect Phatology and Advanced Treatise*. Departement of California. Academic Press. New York and London. 1:382 – 400.
- Subbaiah EV, Royer C, Kanginakudru S, Satyavathi VV, Babu AS, Sivaprasad V, Chavancy G, DaRocha M, Jalabert A, Mauchamp B, Basha I, Couble P, and Nagaraju J. 2012. Engineering silkworms for resistance to baculovirus through multigene RNA interference Genetics: *Advance Online Publication* as 10.1534/genetics.112.144402.
- Suresh KN, Lakshmi H, Saha AK, Bindroo BB and Longkumer N. 2012. Evaluation of Bivoltine Silkworm Breeds of *Bombyx mori* L. under West Bengal Conditions. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. 5: 393-401.
- Tanada Y and Kaya HS. 1993. *Insect Pathology*. Toronto: *Academic Press, Inc.* pp. 666.
- Watanabe H. 2002. Genetic Resistance of Silkworm *Bombyx mori* to Viral Diseases, *Current Science*. Nodai Research Institute, Tokyo University of Agriculture, Tokyo, Japan.
- Yup-lian L. 1991. *Silkworm Disease*. Rome: *FAO Agricultural Services Bulletin* 73/4. p. 75.