

CONTROL DE *Erinnyis ello* (L) (Lep: Sphingidae) GUSANO CACHON DE LA YUCA *Manihot esculenta* (Crantz) CON *Baculovirus erinnyis* NGV.

Bernardo Arias V.*
Anthony C. Bellotti

RESUMEN

Erinnyis ello (L), gusano cachón o coya de la yuca, es una plaga que puede reducir la producción de raíces hasta un 64%, según la edad de las plantas, el número de ataques y las condiciones agro-ecológicas en que se desarrolla el cultivo.

Existen más de 30 agentes naturales de control de esta plaga, entre los cuales está *Baculovirus erinnyis*, virus de la granulosis, el cual constituye una fuente potencial de control, ya que puede reducir sus poblaciones a niveles por debajo del umbral de daño económico.

Para esta investigación, se realizaron trabajos en el CIAT con el objeto de determinar el efecto de *B. erinnyis* usado fresco, refrigerado durante 4 años y en polvo con 2 años de almacenamiento al ambiente. El virus fue aplicado en el campo sobre parcelas experimentales y en hojas bajo condiciones de laboratorio en concentraciones de 30.0, 6.0 y 0.26%, usándose dosis de 5 y 10 cc/litro de agua. Se estudiaron métodos de separación, purificación y almacenamiento que permitieran el uso práctico de este agente de control por parte de los agricultores.

De acuerdo con los resultados, *B. erinnyis* puede ser obtenido a partir de larvas infestadas por métodos sencillos y prácticos, para ser aplicado en la forma convencional, con controles significativos entre las 72 y 161 horas después de su aplicación.

SUMMARY

The cassava hornworm *Erinnyis ello* can cause yield reduction up to 64% depending upon plant age, number of attacks and agroecological conditions.

The virus *Baculovirus erinnyis* is one of 30 natural enemies reported for cassava hornworm. *B. erinnyis* constitutes a potential control agent since it can reduce pest populations below the economic threshold.

Experiments were conducted at CIAT to determine the effect of *B. erinnyis* when used fresh, refrigerated during 4 years and stored in powder form during 2 years at room temperature. The virus was applied in the field on experimental plots and under laboratory conditions on cassava leaves at 30.0, 6.0 and 0.26% concentrations.

Isolation, purification and storage methods were studied to facilitate the virus practical use by farmers.

Results show that *B. erinnyis* can be obtained from infested larvae by easy methods and can be applied by conventional methods to obtain significant control at 72 and 161 hours after application.

INTRODUCCION

Erinnyis ello (L), gusano cachón de la yuca, puede causar pérdidas hasta de un 64% en la producción de raíces (Arias, Bellotti, 1984), dependiendo de la edad de las plantas, el número de ataques del insecto y las condiciones agro-ecológicas en que se desarrolla el cultivo.

Existen más de 30 agentes naturales de esta plaga, los cuales permiten mantener un equilibrio durante períodos que pueden variar entre 3 y 7 años. Un agente promisorio de control del gusano cachón es el *Baculovirus erinnyis*, virus de la granulosis nuclear, el cual puede reducir las poblaciones de esta plaga a niveles inferiores al umbral de daño económico.

Bajo condiciones de campo y de laboratorio, se han realizado en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) varias investigaciones, con el objeto de determinar la efectividad del virus en el control de *E. ello*, así: 1. Utilizando *Baculovirus* impuro recién colectado, con menos de 2 meses de almacenamiento en frío (3-4°C); 2. *Baculovirus* impuro, con 4 años de almacenamiento en frío y 3. *Baculovirus* puro (liofilizado), almacenado dos años en ambiente seco y fresco.

REVISION DE LITERATURA

Los virus que causan enfermedades en insectos juegan un papel muy importante en la regulación de sus poblaciones, tanto en condiciones naturales como cuando se los usa en programas de control (Bustillo, 1984).

Desde el punto de vista de las investigaciones básicas, quizás la de los virus ha sido el área más activa de investigación en la patología de insectos. Actualmente, se conocen cerca de 250 infecciones virales en aproximadamente 175 insectos y arácnidos. De esta cantidad, 170 son poliedrosis nucleares, 30 poliedrosis citoplasmáticas, 35 granulosis y se conocen 8 que parece no están asociados con inclusiones

* Asistente de Investigación y Entomólogo respectivamente. Programa Entomología Yuca, CIAT, Apartado Aéreo No. 6713, Cali, Colombia.

de ninguna clase (De Bach, 1964). Los **Baculovirus** comprenden los virus de la poliedrosis nuclear y granulosis. El virión de este virus está formado típicamente por ADN y es de forma cilíndrica. Los virus de la granulosis (VG) está formado, también, por un cuerpo de inclusión (0.2-0.5 micras) semejante a gránulos de forma oval o elipsoidal, ocasionalmente, sólo contienen 2 viriones (Bustillo, 1984).

En Colombia, hasta la fecha, no existen estudios relacionados con **Baculovirus erinnivis**, virus de la granulosis en gusano cachón de la yuca (**Erinnys ello**) y, por ésto, el presente trabajo constituye el primer aporte al conocimiento de este importante agente entomopatógeno. Cuno et al (1981) mencionan que, posiblemente, el virus aislado en Colombia de **E. ello** sea uno de los de la granulosis de la familia **Baculoviridae**. De Bach (1964) y Cuno et al (1981) manifiestan, también, que los virus de la granulosis, en su patología, infectan principalmente el cuerpo graso del insecto y, en algunos casos, el epitelio del intestino. A veces, la infección se manifiesta por cambio de color de la cutícula del insecto, como sucede en **Pieris rapae** en el cual la superficie ventral aparece blanca durante el desarrollo de la enfermedad. El insecto suspende su alimentación y presenta diarrea y su movimiento es lento. A pesar de que la mayoría de los hospederos de estos virus son lepidópteros, se han encontrado algunos hemípteros de los géneros **Melolontha** y posiblemente **Oryctes**. Sólo los estados de larva y pupa son altamente susceptibles y los adultos pueden llevar el virus, pero, por lo general, sobreviven al ataque (De Bach, 1964).

ESPECIFICIDAD

Los **Baculovirus** que pueden reproducirse en más de un hospedero tienen una ventaja considerable sobre aquellos que son monoespecíficos. Estas ventajas están relacionadas con un mayor número de hospederos disponibles para la multiplicación del virus, resultando un incremento del inóculo, lo mismo que una mayor distribución espacial, teniendo un efecto significativo sobre la dinámica de población del virus (Granados, 1986). A pesar de

que la especificidad de **Baculovirus** no ha sido estudiada en detalle, Ignoffo (1968 y 1975) señaló que virus que producen cuerpos ocluidos tienden a ser más específicos con sus hospederos que los que no producen cuerpos ocluidos.

ALMACENAMIENTO

Aunque los virus no ocluidos no son estables en largos períodos de almacenamiento, los poliedros son relativamente estables cuando son almacenados, refrigerados, o congelados. Esto lo comprobaron Aizawa (1963) y Jaques (1977) con la significativa actividad de preparaciones de poliedros después de haber estado en refrigeración durante 20 años. Los **Baculovirus** son menos estables a la temperatura ambiente, pero la mayoría de los poliedros permanecen infectivos por varios años a dicha temperatura (Huger, 1963). David (1975), citado por Granados y Federici (1986), revisó estudios sobre estabilidad y reportó que GV de **Pieris brassicae** y **P. rapae** mantuvieron una pequeña actividad después de 1 a 5 años de almacenamiento. Temperaturas por encima de la ambiental dieron como resultado un decrecimiento rápido de la estabilidad del **Baculovirus**. En general, para los virus de insectos, existen pocas pautas sobre la temperatura óptima de almacenamiento y ésta varía de un investigador a otro. A temperaturas entre 38 y 42°C, perdieron significativamente su actividad en pocos meses o semanas (Lewis et al, 1978; David et al, 1967; Hunter et al, 1973) y a 50°C, la actividad del virus se pierde en término de horas o minutos. Cunningham (1971) adoptó el congelamiento en seco y el material fue almacenado a 4°C, obteniendo pequeñas pérdidas en la actividad del virus. Chauthani y Clausen (1968), Martignoni (1978) liofilizaron suspensiones de virus que fueron molidas y obtuvieron polvo de finas partículas que empacaron al vacío y almacenaron en sitio seco y fresco y, con ello, su actividad no tuvo pérdidas (por los últimos 5 años). Cualquiera de estas condiciones de almacenamiento mantuvo la actividad de la preparación viral y los niveles de contaminación no se incrementaron.

Pocos estudios se han realizado sobre el efecto de la humedad en la actividad de **Baculovirus**. Couch e Ignoffo (1981) y Jaques (1977), reportados por Granados (1986), resumieron unos hallazgos e indicaron que la estabilidad de preparaciones virales se incrementa a medida que el contenido de humedad disminuye. Sin embargo, se presenta una excepción notable sobre esta generalización, pues David (1975) registró que **P. brassicae** y **P. rapae** GV, fueron más estables cuando se almacenaron en ambiente húmedo.

En cuanto a la luz, los **Baculovirus** son rápidamente inactivados por las ondas cortas y largas de luz ultravioleta (254-310 nanómetros) y las preparaciones no deben ser expuestas a ésta durante ni después de la formulación (Jaques, 1977; Aizawa, 1954; McLeod et al, 1977). David (1975) reportó que **P. brassicae** GV fue más estable en película húmeda cuando fue expuesta a luz ultravioleta.

ESTABILIDAD EN EL CAMPO

Los **Baculovirus** son rápidamente inactivados por el espectro de la luz ultravioleta de los rayos solares, llegando a tener una vida de 2 o varias horas.

La pérdida de la actividad no es debida a la acción germicida de las ondas cortas del espectro de la luz ultravioleta, ya que en la luz natural del sol existen ondas largas superiores a 290 nm. David (1969), citado por Granados (1986), encontró que la luz ultravioleta de 290 a 320 nm. reduce rápidamente la actividad de **P. brassicae** GV. Similares resultados han sido reportados con el NPV del **H. zea** y el NPV de **Galeria melonela** (Witt y Stairs, 1975). Exposición de **Baculovirus** a radiación con ondas más largas (cerca de 360 nm) tuvieron un pequeño efecto sobre la actividad viral (Witt y Stairs, 1975); Morris, 1971; Bullock et al, 1970.

APLICACION DE INSECTICIDAS VIRALES

La aplicación de los insecticidas virales ha sido a través de los métodos con

vencionales de los pesticidas químicos. (Ignoffo, 1970; Yearian y Young, 1978).

Es bien reconocido que la eficacia de los insecticidas virales puede ser incrementada a través del mejoramiento de los métodos de aplicación, pero se han realizado pocos estudios tendientes a mejorar estos métodos. La forma de infección por virus es por la vía oral, por lo cual las aplicaciones deben realizarse de tal manera que se provea una óptima cantidad de virus en los sitios de alimentación y estos sitios pueden diferir de acuerdo con el insecto plaga, la especie de planta hospedera, el estado de desarrollo del insecto huésped, etc. Además, se debe tener en cuenta que, cuando los virus son aplicados a plantas de rápido desarrollo, el nuevo crecimiento quedará libre de virus depositado y, por consiguiente, se requiere repetir las aplicaciones en cortos intervalos de tiempo, con el fin de mantener una cobertura adecuada de la planta (Gránados, 1986).

MATERIALES Y METODOS

El **Baculovirus** constituyó el material fundamental para la realización de los diferentes estudios presentados en este trabajo y se obtuvo a través del tiempo, desde cuando apareció en colonias de **E. ello** en 1976 y de él se hicieron renovaciones permanentes. Para la disponibilidad permanente del virus fue necesario mantener una colonia de gusano cachón, la cual se pudo lograr mediante la utilización de jaulas de 1.5 x 1.5 x 1.5 m cubiertas por malla, donde se confinan adultos con plantas de yuca y, así, se obtuvieron huevos y larvas disponibles todo el tiempo. Los adultos, para introducir en las jaulas, se capturaron mediante trampas de luz negra, tipo T20T12BLB.

En otras jaulas iguales a las citadas anteriormente, se aplica el **Baculovirus** a larvas que están entre tercero y cuarto instar. El virus fue colectado de larvas enfermas y se almacenó en frío entre 3 y 4°C, para su futura utilización. Se prepararon soluciones madres que fueron diluidas, para ser aplicadas en dosis diferentes y evaluar su efectividad en el control de gusano cachón, **E. ello**.

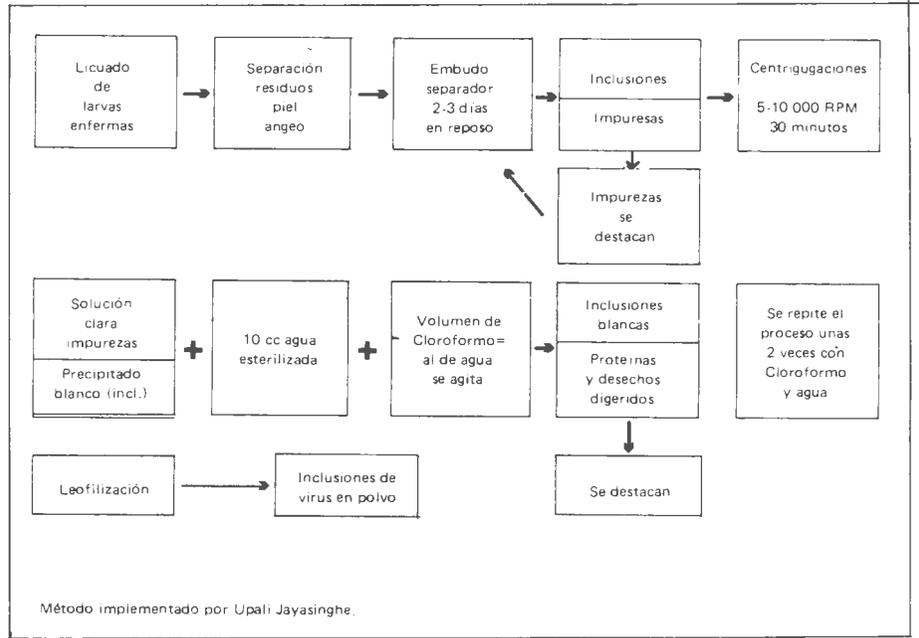


Figura 1. Proceso* para la obtención de **Baculovirus** en polvo (purificado).

El material viral utilizado en forma impura se extrajo de larvas procedentes del campo y parte de él se purificó y se transformó en polvo.

Preparación de Soluciones Madres

1. Pesada de larvas muertas por virus.
2. Macerado o licuado.
3. Separación de residuos de piel, mediante un tamiz o malla.
4. El material filtrado, se mezcla con una cantidad de agua conocida, según la concentración que se desea obtener de la solución madre.

Cuando se agregó agua en el tamizado, se tuvo en cuenta la cantidad usada.

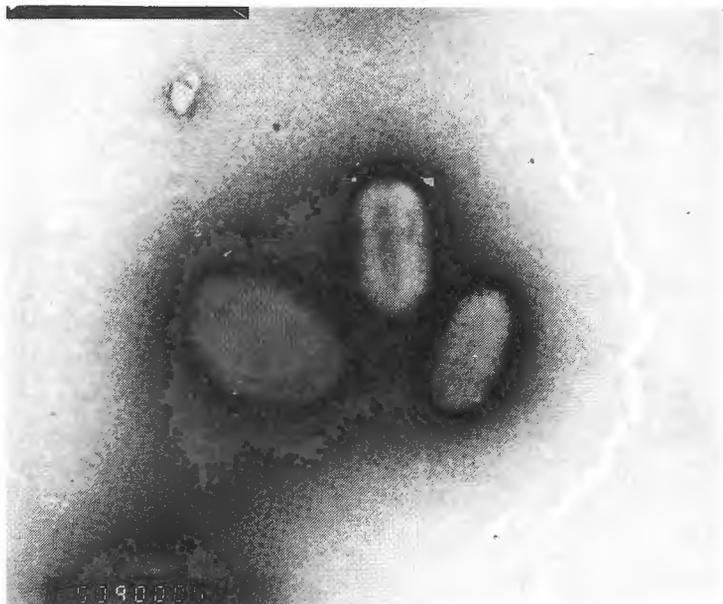
Cuando la solución madre se preparó con **Baculovirus** en polvo (purificado), el procedimiento se redujo a hacer una dilución de éste en la cantidad de agua requerida, para llegar a la concentración deseada. A partir de estas concentraciones, se pueden usar las dosis que se deseaban evaluar para determinar el efecto del patógeno sobre la plaga.

En la Figura 1, se puede apreciar el esquema de uno de los métodos utilizados para la purificación del **Baculovirus**. El método implementado por

Upali Jayasinghe se basa principalmente en un proceso de centrifugación y digestión de proteínas con cloroformo. En la fotografía 1, se puede apreciar al microscopio electrónico un cuerpo ocluido aumentado 50.000 X, obtenido después de la purificación.

Varios ensayos fueron realizados para determinar la eficiencia del **Baculovirus erinnyis** en el control de **E. ello**. El primero se realizó en 1980, en Santander de Quilichao en la granja del CIAT, aprovechando una alta incidencia de la plaga en varios lotes (promedio de 32 larvas/planta). Se marcaron parcelas de 36 plantas con 4 repeticiones y 2 tratamientos o dosis para evaluar: 5 cc de **Baculovirus** 30% por litro de agua y 10 cc de la misma solución. Después de 72 horas de aplicado el patógeno, se hizo una recolección al azar de 20 larvas por parcela y tratamiento. Se llevaron al laboratorio, donde se les suministró alimento y se observó sintomatología y mortalidad.

Otro ensayo, a nivel de laboratorio (25°C HR), se realizó con el mismo objetivo, ofreciendo follaje aplicado de **Baculovirus** a larvas en bandejas plásticas de 35 cm x 20 cm x 15 cm. En cada bandeja se introdujeron 10 larvas de primer instar, con 5 repeti-



Fotografía 1. Cuerpo viral ocuido de *Baculovirus erinnyis*, aumentada 50.000 X al microscopio electrónico. CIAT 1984.

ciones para un total de 50 larvas evaluadas por tratamiento. En cada ensayo se colocó su correspondiente testigo.

Un tercer ensayo se llevó a cabo en los campos de CIAT-Palmira en 1985, con el fin de evaluar el control de *E. ello* con *Baculovirus* después de haber sido almacenado por períodos de 2-4 años, en diferentes condiciones físicas: puro e impuro. En la Tabla 1, se pueden apreciar las soluciones madres, preparaciones y dosis aplicadas en todos los ensayos.

Los diferentes tratamientos aplicados se hicieron a surcos de 40 m de longitud, donde se marcaron 15 plantas al azar para ser observadas en cada evaluación. Entre cada surco tratado se dejaron como barrera 20 surcos de por medio. Las evaluaciones se hicieron a las 0 - 41 - 89 - 113 y 161 horas.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el primer ensayo realizado en Santander de Quilichao, con las dos dosis utilizadas, a las 72 horas después de la

aplicación y cuando se hizo la recolección de larvas se observó mortalidad en el campo y, a las 120 horas después de la aplicación, hubo mortalidad del 100%. En las bandejas donde se colocaron las larvas colectadas en las parcelas sin aplicación del virus, no se presentó mortalidad alguna.

Con estos resultados se obtuvieron los primeros indicios de la posibilidad de utilizar el *Baculovirus erinnyis* para el control de gusano cachón. También, se observó la facilidad con que se puede aplicar este patógeno utilizando los métodos convencionales. Es importante destacar que en la solución preparada no queden partículas (piel y residuos del insecto) que puedan obstruir las boquillas de las bombas de aplicación.

En el ensayo de laboratorio, cuando se ofreció follaje asperjado con el *Baculovirus* a las larvas en primer instar, cuyos resultados se pueden observar en la Tabla 2, se aprecia la diferencia en el porcentaje de mortalidad entre el testigo y los dos tratamientos con *Baculovirus* después de 48 y 72 horas de la aplicación. Cuando se aplicaron 10 cc de *Baculovirus*, 30% por litro de agua, la mortalidad fue más rápida (100% a las 72 horas) que cuando se usaron 5 cc (100% de mortalidad a las 96 horas). A las 48 horas hubo diferencia significativa entre las dos dosis, pero a las 72 horas no. En la Figura 2 se puede apreciar que la cantidad de larvas sanas en estos períodos es 0. Al final, el testigo presentó un porcentaje de mortalidad del 30%, posiblemente, debido al manipuleo en el laboratorio.

En este ensayo comparado con el primero, la mortalidad ocurrió en un período menor (48-96 horas vs. 72-120 horas), debida, posiblemente, a que el follaje consumido por las larvas en confinamiento estuvo bien cubierto por el virus, mientras que, en el campo, no se presentó esta misma situación. Esto resalta la importancia de hacer un mayor cubrimiento con la solución viral a nivel de campo o realizar, según la situación, aplicaciones a intervalos más cortos, como indica Granados (1986).

TABLA 1. *Baculovirus erinnyis* soluciones madres y dosis usadas para el control de *E. ello*.

Tipo de Virus	Solución Madre (%)	Preparación	Dosis Aplicada
Recién colectado Impuro de 2 meses en frío	30	300 gr. larvas en 700 cc. de agua	5 y 10 cc/lit. de agua
	6	30 gr. larvas en 470 cc. de agua	10 cc/litro de agua
Liofilizado (Polvo) Puro 2 años al ambiente	0.26	0.13 gr. polvo en 50 cc. de agua	10 cc/litro de agua
Viejo - Impuro 4 años en frío	6	30 gr. larvas en 470 cc. de agua	10 cc/litro de agua

TABLA 2. Control de *Erinnyis ello* con *Baculovirus* (NGV).

Dosis por litro de agua	Tiempo horas	No. larvas sanas	No. larvas muertas por virus	% mortalidad acumulado
5 cc	0	50	0	0 A
	48	27	23	46 C
	72	4	23	92 BB
	96	0	4	100 BB
10 cc	0	50	0	0 A
	48	9	41	82 BB
	72	0	9	100 BB
Testigo 0 cc	0	50	0	0 A
	48	50	0	0 A
	72	46	4	8 A
	96	35	11	30 C

Nivel de significancia al 005.

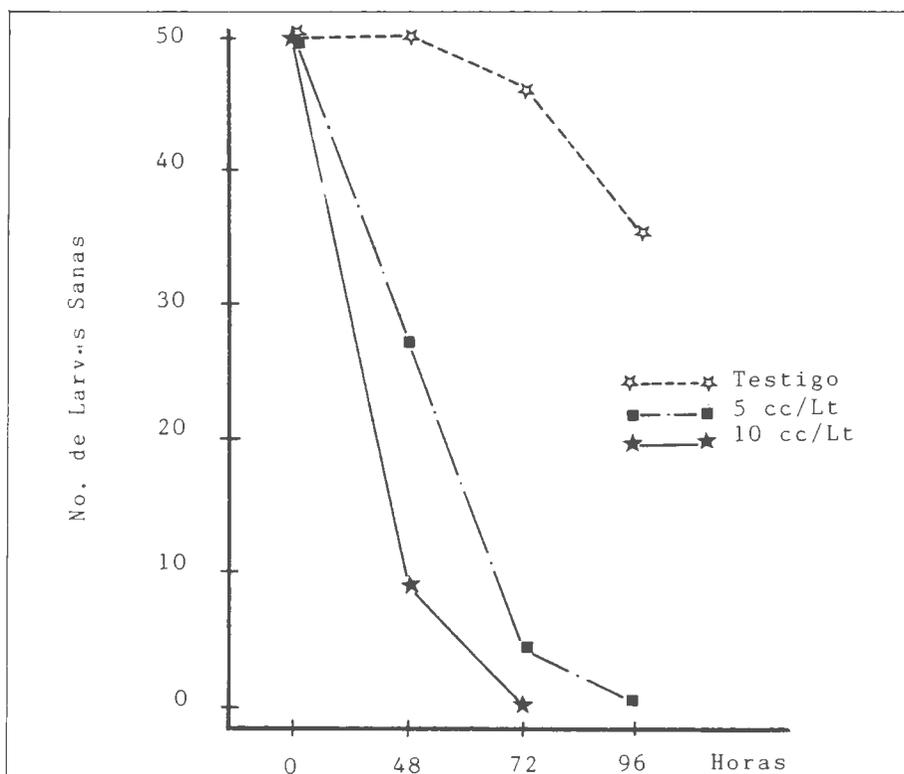


Figura 2. Control de *Erinnyis ello* con *Baculovirus* (NGV).

En el tercer ensayo se utilizaron: *Baculovirus* almacenado impuro (4 años) entre 3 y 4°C, puro (liofilizado) al ambiente durante 2 años e impuro recién colectado (menos de 2 meses de almacenamiento en frío) aplicados en el campo. La Figura 3 indica que los resultados más efectivos para el con-

trol de *E. ello*, aplicando *Baculovirus*, en todos los períodos evaluados, fueron cuando se utilizó material con menor tiempo de almacenamiento, seguido de aquel con 4 años (1-4A-F) e impuro. En el *Baculovirus* puro (P-2A-A), su efecto se empezó a notar a las 89 horas (0.4% mortalidad) y su virulen-

cia fue menor, pues, cuando en el impuro la mortalidad llegó al 100%, en éste, el máximo alcanzado fue 27.2%.

Esta situación pudo deberse a la concentración utilizada en la solución madre, 0.26% comparada con 6% para los otros dos tratamientos, aunque las dosis utilizadas fueron iguales (10 cc soluc./litro agua) Tabla 1. En el surco testigo, en ninguno de los períodos evaluados se presentó mortalidad de larvas.

Es importante resaltar en este ensayo, que todos los sistemas utilizados arrojaron resultados positivos en mayor o menor grado para el control de *E. ello*. Estos resultados de almacenamiento y control tienen concordancia con los obtenidos por Croninham (1971), Chauthani y Clausen (1968) y Martignoni (1978), reportados por Granados (1986).

En el tercer ensayo, fue evaluado, también, el parasitismo de huevos en las plantas y el comportamiento de éste puede verse en la Figura 4, donde se aprecia que las aplicaciones de *Baculovirus* tampoco tienen efecto negativo sobre el parasitismo de huevos, ya que la tendencia de éste en cada uno de los tratamientos fue el de aumentar y fluctuó entre 20 y 40% inicialmente (a las 0 horas) hasta 58 y 82% (a las 161 horas).

Es necesario anotar que, en Brasil, actualmente, se ha adoptado por parte de las entidades nacionales esta metodología sencilla para el control de *E. ello* y se ha logrado su objetivo con mucho éxito teniendo gran aceptación entre los cultivadores de yuca y se está implementando para ser utilizada en Colombia.

Síntomas característicos de larvas de *E. ello* atacadas por *Baculovirus erinnyis*.

1. Las larvas de color negro se tornan brillosas en su superficie dorsal y la cutícula pierde su apariencia oscura (textura como de pana) y se torna más lisa y clara.
2. Las larvas de color amarillo y verde

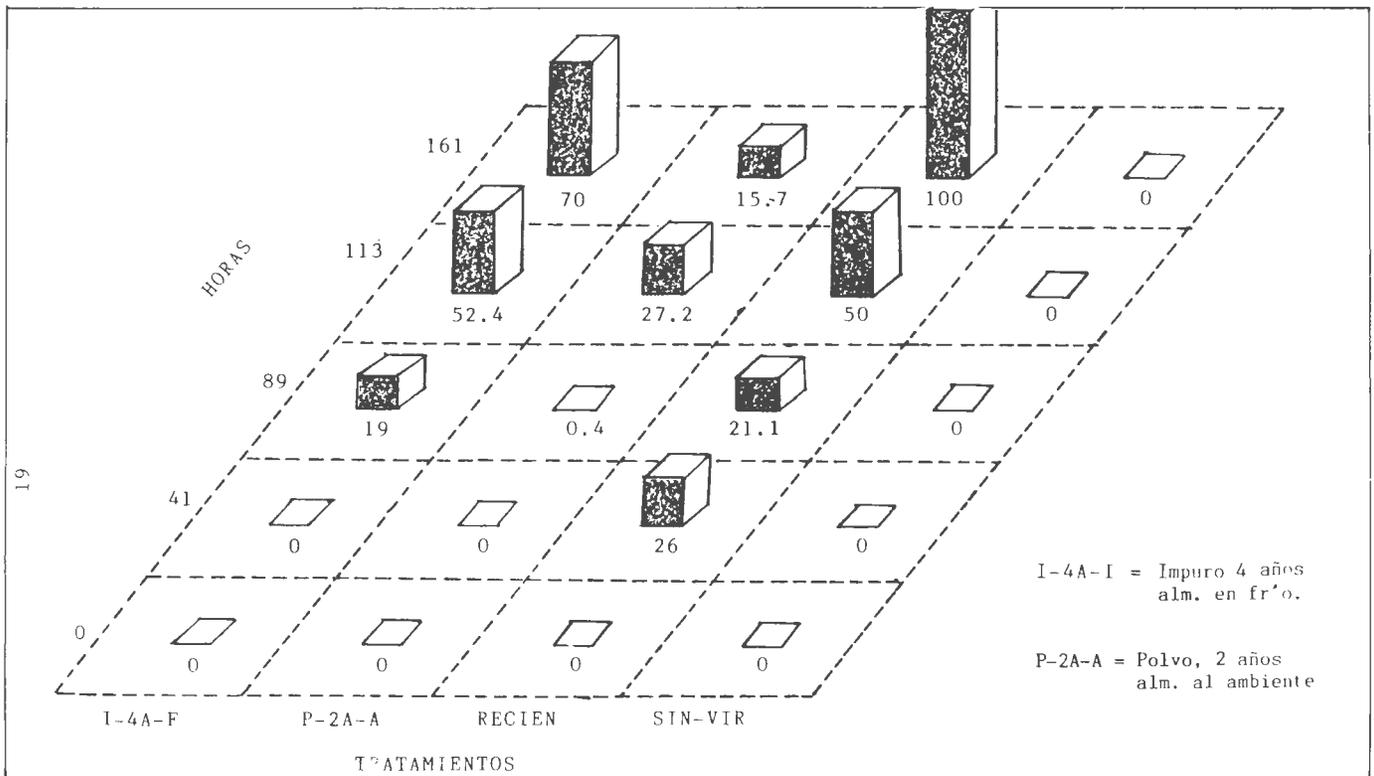


Figura 3. Porcentaje de larvas muertas por *Baculovirus erinnyis*.

se tornan más claras y, a través de la cutícula, se aprecia una coloración lechosa como coágulos, al mismo tiempo, aparecen manchas color marrón entre los pliegues de los segmentos. Al pincharlas con algún objeto punzante, las larvas emanan un líquido lechoso, semejante al latex.

- Las larvas se vuelven lentas en su actividad y dejan de alimentarse.
- Presentan diarrea y los últimos excrementos pueden quedarse adheridos al segmento anal.
- Las larvas se tornan rugosas y pueden colgarse de los pecíolos de las hojas o morir sobre la superficie de las mismas o sobre el tallo.

- Después de cierto tiempo, se produce descomposición por contaminación y las larvas se revientan produciéndose un olor desagradable.

CONCLUSIONES

- El virus *B. erinnyis*, que ataca al

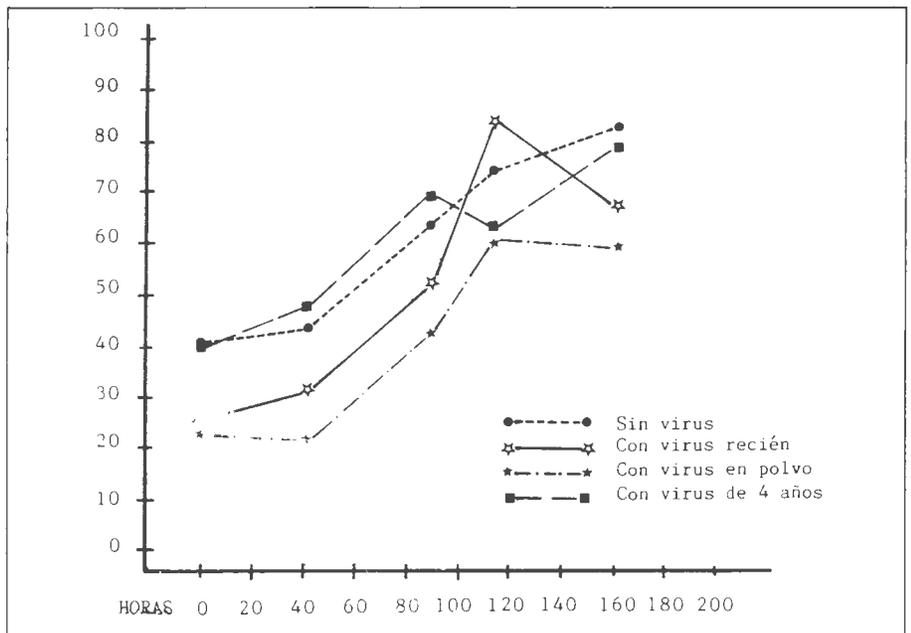


Figura 4. Comportamiento del parasitismo de huevos de *E. ello* en parcelas tratadas con *Baculovirus erinnyis*.

gusano cachón *E. ello*, puede ser obtenido de larvas enfermas y ser utilizado como insecticida biológico.

- Según la concentración de la solu-

ción madre, las condiciones de almacenamiento y la dosis aplicada, el *B. erinnyis* puede producir la muerte de las larvas de cachón entre las 41 y 160 horas después de aplicado.

3. *B. erinnyis* en estado impuro puede ser almacenado entre 2 y 4°C por más de 4 años sin perder su viabilidad.
4. De acuerdo con los resultados obtenidos, el virus es más eficaz cuando se aplica recién obtenido de larvas enfermas.
5. En esta investigación, el virus arrojó resultados positivos en todas las concentraciones, dosis y formas en que se usó.
6. *B. erinnyis* es un agente biológico, que puede ser extractado fácilmente por cualquier agricultor.
7. *B. erinnyis* no tiene un efecto negativo sobre los parásitos de huevo de *E. ello*.

BIBLIGRAFIA

1. AIZAWA, K. 1963. The nature of infections caused by nuclear polyhedrosis viruses, in insect pathology. An advance Treatise, Vol. 1, Steinhaus, E.A., Ed., Academic Press, New York, 383.
2. AIZAWA, K., 1954. Dissolving course and the virus activity of the polyhedral bodies of *Bombyx mori*, Sanshi Kenkyu. 8,52.
3. ARIAS, V.B., A.C. BELLOTTI. 1984. Pérdidas en rendimiento (daño simulados) causadas por *Erinnyis ello* (L) y niveles críticos de población en diferentes etapas de desarrollo en tres clones de yuca. Revista Colombiana de Entomología; 10, 3-4. pp 28-35.
4. BULLOCK, H.R., J.P. HOLLINGS WORTH and A.W. HARSTACK. 1970. Virulence of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus exposed to monocromatic ultraviolet irradiation, J. Invertebr. Pathol. 16, 419.
5. BUSTILLO, A.E.P. 1984. Microorganismos patógenos a insectos: características y modo de acción. Seminario sobre patología de insectos. SOCOLEN, Comité Seccional de Antioquia. pp 7-55.
6. COCH, T.L. and C.M. IGNOFFO. 1981. Formulation of insect pathogens, in microbial control of pests and plant diseases, 1970-1980, Burges, H. D. Ed., Academic Press, New York, 621.
7. CUNNINGHAM, J.C. 1971. Polyhedrosis viruses infecting the eastern hemlock looper, *Lambdina fiscellaria* in Proc. 4th Int. Collq. insect Pathol., College Park, Md. 292.
8. CUNO, G., J.CH. MULET y A. De HERNANDEZ. 1981. Patología de insectos con énfasis en las enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en el control biológico. Universidad del Valle, Cali, Colombia. 253 p.
9. CHAUTHANI, A.R. & D. CLAUSEN, DOUGLAS REARING. 1968. Fir tussock moth larvae on synthetic media for the production of nuclear polyhedrosis virus, J. Econ. Entomol., 61,101.
10. DAVID, W.A.L. 1969. The effect of ultraviolet irradiation of known wavelengths on a granulosis virus of *Pieris brassicae*, J. invertebr. Pathol. 14, 336.
11. DAVID, W. A.L. 1975. The granulosis virus of *Pieris brassicae* (L.) and relationship with its host, in advances in virus research, Lauffer, M.A., Bang, F.R., Mara Morosch, K., and Smith, K.M., Academic Press, New York, 111.
12. DE BACH, P. 1964. Control biológico de plagas de insectos y malas hierbas. Ed., CECSA, México. pp 619-633.
13. GRANADOS, R.R. & FEDERICI, B.A. 1986. The biology of Baculoviruses Practical application for insect control. Ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, Volume II. 276 p.
14. HUNTER, D.K., D.F. HOFFMAN and S.J.P. COLLIER. 1973. Pathogenicity of a nuclear polyhedrosis virus of the almond moth; *Cadra cautella*, J. Invertebr. Pathol., 21, 282.
15. IGNOFFO, C.M. 1968. Specificity of insect viruses, Bull. Entomol. Soc. Am., 14, 265.
16. IGNOFFO, C.M. 1975. Evaluation of in vivo specificity of insect viruses, in **Baculoviruses** for Insect Pest Control., Safety considerations, summers, M Engler, R. Falcon, L.A. and Vail, P. Eds. American Society of Microbiology, Washington, D.C. 52.
17. JAQUES, R.P. 1977. Stability of entomophogenic viruses, Misc. Pobl. Entomol. Soc. Am. 10, 99.
18. LEWIS, F.B. & W.D. ROLLINSON. Effect of storage on the virulence of gypsy moth nucleopolyhedrosis inclusion bodies, J. Econ. Entomol. 71, 719.
19. MARTIGNONI, M.E. 1978. Production, activity and safety of the Douglas fir tussock moth nucleopolyhedrosis virus, USDA for Serv. Tech. Bull., No. 1585, 140.
20. McLEOD, P.J., W.C. YEARIAN and S.Y. YOUNG. 1977. Inactivation of *Baculovirus heliothis* by ultraviolet irradiation, dew and temperature, J. Invertebr. Pathol. 30, 237.
21. MORRIS, O.N. 1971. The effect of sunlight, ultraviolet and gamma radiations and temperature on the infectivity of nuclear polyhedrosis virus, J. Invertebr. Pathol., 18, 292.
22. WITT, D.J. and G.R. STAIRST. 1975. The effects of ultraviolet irradiation on a *Baculovirus* infecting *Galleria mellonella*, J. Invert. Pathol., 26, 321.