

PENINGKATAN EFEKTIFITAS *Helicoverpa armigera* NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS DENGAN BEBERAPA BAHAN PEMBAWA UNTUK MENGENDALIKAN HAMA POLONG KEDELAI *Helicoverpa armigera* (Hubner)

Bedjo ¹⁾

ABSTRAK

Ulat perusak polong, *Helicoverpa armigera* merupakan salah satu hama penting pada tanaman kedelai, dapat menurunkan stabilitas produksi kedelai. Kehilangan hasil akibat serangan hama tersebut dapat mencapai 90%. Sampai saat ini cara pengendalian terhadap hama tersebut masih mengandalkan insektisida kimia. Di samping biayanya lebih mahal, pengendalian secara kimiawi dapat mengganggu populasi parasitoid dan predator. Pemanfaatan HaNPV untuk pengendalian hama *H. armigera* di Balitkabi, menunjukkan bahwa HaNPV mempunyai prospek yang baik untuk mengendalikan *H. armigera*. Mortalitas ulat akibat terinfeksi HaNPV di laboratorium sangat tinggi bahkan hampir 100%. Di rumah kaca mortalitas mengalami penurunan yang cukup rendah, dan penurunan mortalitas lebih besar terjadi pada saat aplikasi HaNPV di lapangan. Hal ini disebabkan karena HaNPV sangat peka terhadap sinar matahari khususnya sinar ultraviolet. Oleh karena itu diperlukan rekayasa formulasi untuk mengurangi tingkat penurunan mortalitas tersebut dengan suatu bahan pembawa yang diformulasikan dengan HaNPV. Di lapangan formulasi HaNPV dengan konsentrasi 15×10^{11} PIBs/ha dengan bahan pembawa Tween 80 sebanyak 40 ml dari volume semprot 600 l/ha mampu mematikan ulat sampai 70%, dengan penurunan daya bunuh dari rumah kaca ke lapang sebesar 22%. Sedangkan waktu aplikasi dilakukan pukul 16.00 mortalitas ulat dapat meningkat mencapai 86%.

Kata kunci: *Glycine soya*, kedelai; *H. armigera*; HaNPV

ABSTRACT

Effectiveness of *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV) Combined with Several Effective Carriers to Control Soybean Podfeeder, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *H. armigera*, is a soybean major pest that significantly reduces the soybean production up to

90%. The pest control has relied on chemical insecticides. The use of the insecticides increases production costs and harms to both parasitoids and predators. An application of HaNPV resulted significant reduction in the podfeeder population (100% mortality) in the laboratory. The mortality rate slightly reduced during greenhouse trials and significantly reduced during field trials due to UV radiation. Formulations were developed to protect the NPV from the UV exposure. An application of HaNPV (15×10^{11} PIBs/ha) in combination with Tween 80 (40 ml of spraying volume of 600 l/ha) was effective to control the pest up to 70%. This mortality reduced 22% in the field compared to that of greenhouse experiments. The effective application was at 4 pm. The larval mortality was 86%.

Keywords: *Glycine soya*, soybean, *H. armigera*; HaNPV

PENDAHULUAN

Helicoverpa armigera (Hubner) (Lepidoptera : Noctuidae) merupakan hama penting pada tanaman kedelai. Kehilangan hasil akibat serangan hama tersebut dapat mencapai 90%. Cara pengendalian hama tersebut pada umumnya masih menggunakan insektisida yang berlebihan, sehingga mengakibatkan meningkatnya ketahanan ulat terhadap insektisida di beberapa sentra produksi kedelai (Endo *et al.* 1988). Selain itu insektisida kimia dapat menimbulkan rusaknya komposisi populasi parasitoid dan predator. Oleh karena itu untuk menghindari dampak negatif kehilangan hasil kedelai diperlukan alternatif pengendalian hama.

Salah satu cara pengendalian yang mempunyai prospek untuk dikembangkan adalah pengendalian hayati, dengan menggunakan bioinsektisida *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus (HaNPV). HaNPV, merupakan virus yang sangat patogenis dan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali hayati, sebagian besar bersifat spesifik. HaNPV merupakan virus yang mempunyai Inclusion Body (IB), termasuk famili Baculoviridae, genus Baculovirus. Penyakit yang disebabkan oleh NPV, disebut Nucleopolyhedrosis (Ignoffo dan Couch 1981).

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Jl. Raya Kendalpayak km 8 Kotak Pos 66 Malang 65101. email: bj_yulismen@yahoo.co.id

Naskah diterima tanggal 15 November 2011, disetujui untuk diterbitkan tanggal 16 Januari 2012. Diterbitkan di Buletin Palawija No. 23: 38-43 (2012).

Jenis NPV yang digunakan untuk mengendalikan *H. armigera* dinamakan *HaNPV*. NPV mempunyai inclusion yang tersusun dari matrik protein, berbentuk seperti kristal tidak teratur bersegi banyak, yang disebut Polyhedral Inclusion Body (PIB) (Tanada dan Kaya 1993; Okada 1977). Di dalam PIB terdapat virus yang disebut virion berbentuk tongkat lurus dengan panjang 336 nm dengan diameter 62 nm kedua ujungnya membulat, rata-rata dalam satu PIB terdapat $26 \pm 5,8$ virion (Granados dan William 1986; Hackett *et al.* 2000).

Bagian NPV yang bersifat infeksius terhadap serangga adalah nucleokapsid, yang terdapat di dalam virion yang dibungkus oleh suatu lapisan yang disebut envelop (Ignoffo dan Couch 1981).

HaNPV dapat digunakan untuk mengendalikan *H. armigera*. Hama ini menyerang paling sedikit 30 jenis tanaman pangan dan serat, sehingga penggunaan insektisida kimia yang mempunyai spektrum racun luas dapat dikurangi (Ignoffo 1973). Penggunaan *HaNPV* dengan konsentrasi 15×10^{11} PIBs/ha di laboratorium dapat mematikan ulat *H. armigera* sampai 90%, sedangkan di lapangan hanya mencapai 25%. Penurunan efektifitas tersebut diakibatkan *HaNPV* tidak tahan terhadap radiasi sinar ultra violet dari matahari yang dapat mempengaruhi efektifitas virion (Bedjo 1997). Oleh karena itu dalam rangka mendukung pengendalian hama terpadu perlu memasyarakatkan insektisida hayati, *HaNPV* memiliki beberapa keunggulan (1) spesifik, selektif terhadap hama sasaran sehingga tidak berbahaya bagi musuh alami, (2) efektif terhadap serangga hama yang sudah resisten terhadap insektisida kimia, dan (3) persisten di lapang serta tidak menimbulkan residu. Namun demikian *HaNPV* mempunyai kelemahan yaitu daya bunuhnya lambat dan peka terhadap sinar ultraviolet (Starnes *et al.* 1993; Stair dan Fraser 1981).

Tulisan ini membahas cara pembiakan *HaNPV* dan penambahan berbagai jenis bahan pembawa untuk meningkatkan keefektifan bioinsektisida *HaNPV* terhadap *H. armigera*.

GEJALA UMUM SERANGAN *HaNPV*

HaNPV masuk ke dalam tubuh inangnya melalui mulut pada saat serangga menelan makanan, dan selanjutnya aktivitas virus berlangsung di dalam perut larva. Pada umumnya infeksi serta perbanyakan virion dan PIB terjadi

pada bagian-bagian yang peka di dalam tubuh larva seperti lapisan epitel vertikulus, hypodermis dan badan lemak (Deacon 1983; Ignoffo dan Couch 1981). Larva yang mati akibat *HaNPV* menunjukkan gejala klasik, yaitu menggantung pada daun atau tangkai daun dengan kepala dan "caudal" di bawah, sedangkan dua kaki abdomen melekat pada bagian tanaman seperti membentuk huruf "V" terbalik, akan tetapi adapula yang menempel pada permukaan daun. Pada umumnya larva yang mati akibat terinfeksi *HaNPV* tubuhnya lembek dan mudah pecah, serta mengeluarkan cairan berwarna coklat susu dengan bau yang sangat menyengat, cairan tersebut merupakan cairan *HaNPV*. Kematian larva akibat terinfeksi *HaNPV* umumnya terjadi pada periode 2–9 hari setelah larva makan *HaNPV* (Bell dan Romine 1980). Larva yang telah makan *HaNPV* aktivitasnya menjadi berkurang. Masa inkubasi *HaNPV* tergantung besarnya instar larva, makin besar instar larva tersebut yang terinfeksi *HaNPV* makin lama larva tersebut mati. Pada larva instar 5 atau 6 yang terinfeksi, siklus hidupnya dapat mencapai pupa maupun imago. Gejala yang terlihat pada imago yaitu sayap yang terbentuk tidak normal (mengkerut/keriting). *HaNPV* yang melekat pada kulit telur *H. armigera* tidak berpengaruh terhadap penetasannya, akan tetapi bila termakan oleh larva yang baru menetas akan berakibat terinfeksi oleh NPV tersebut (Narayanan 1985).

PERBANYAKAN *HaNPV* SECARA SEDERHANA

Pembuatan bioinsektisida *HaNPV* melalui beberapa tahapan yaitu 1) pembiakan massal larva *H. armigera* yang digunakan sebagai inang *HaNPV*, 2) perbanyakan dan standarisasi *HaNPV*, 3) formulasi *HaNPV* dan 4) teknik penyimpanan.

1. **Pembiakan massal *H. armigera*.**

Keberhasilan dalam memproduksi *HaNPV* berkaitan erat dengan usaha pembiakan secara massal (*mass rearing*) dan sterilitas tempat pembiakan inang. Sebagai bahan perbanyakan dapat dilakukan dengan mengumpulkan larva *H. armigera* dari lapang selanjutnya dipelihara pada kotak plastik dan diberi pakan buatan atau pakan segar sampai menjadi pupa (kepompong). Imago atau ngengat yang muncul dimasukkan dalam stoples yang bagian dindingnya dilapisi dengan kertas untuk peletakan telur, dan ditutup dengan kain strimin pada bagian

atasnya kemudian diberi pakan dengan madu ataupun sucrose 10%. Telur-telur yang dihasilkan dipelihara sampai menjadi larva yang akan digunakan sebagai inang *HaNPV*, dengan diberi pakan buatan dengan komposisi (1) kacang hijau 178 g/l, (2) Asorbic Acid 3,1 g/l, (3) Brewer's yeast 24,7 g/l, (4) Methyl Paraben 1,5 g/l, (5) Sorbic Acid 0,8 g/l, (6) Aceton 3,9 ml/l, (7) Formalin (40%) 2 ml/l, (8) Agar 13,9 g/l, (9) air untuk pencampuran 463 ml, dan (10) air untuk Agar 309 ml.

2. Perbanyak dan standarisasi *HaNPV*

Untuk mendapatkan *HaNPV* dalam jumlah besar adalah dengan cara menginokulasi/menularkan media *HaNPV* pada makanan buatan atau makanan segar untuk serangga inang. Untuk mendapatkan jumlah PIB yang lebih banyak, digunakan larva *H. armigera* instar IV, hal ini diharapkan larva akan mati pada instar V atau VI dan pengambilan larva mati dilakukan sebelum tubuh larva hancur. Selanjutnya larva yang mati dikumpulkan kemudian ditumbuk dan disaring dengan kertas saring. Suspensi yang terkumpul kemudian dimurnikan dengan menggunakan sentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Endapan yang diperoleh digunakan sebagai "suspensi polyhedral stock". Pada proses pemurnian tidak dilakukan penambahan bahan kimia, karena bahan kimia berpengaruh terhadap efektifitas dan virulensi isolat (Ignoffo dan Montoya 1976). Standardisasi konsentrasi *HaNPV* dilakukan berdasarkan satuan PIB/ha dengan menghitung jumlah PIB pada larva mati, yang selanjutnya akan digunakan sebagai suspensi polyhedral stock untuk menentukan konsentrasi PIB yang dilakukan dengan dua cara yaitu:

- a. Konsentrasi PIB/ml: rata-rata $\text{PIB} \times 4 \times 10^6 \times d$ (pengenceran) per 5 blok (pada haemocytometer),
- b. Konsentrasi PIB/g: rata-rata $\text{PIB} \times 50.000 \times d$ (pengenceran) per 5 blok (pada hemocytometer).

Secara konvensional kebutuhan NPV per hektar diperkirakan sekitar 1500 larva/ha, hal ini apabila seekor larva instar VI mati terinfeksi *HaNPV* mengandung 1×10^9 PIBs. Dari jumlah PIB tersebut kemudian untuk membagi dengan dosis efektif yaitu $(15 \times 10^{11} \text{ PIBs/ha}) / (1 \times 10^9 \text{ PIBs/ekor}) = 1500 \text{ ekor/ha}$.

3. Formulasi *HaNPV* secara sederhana

Bentuk-bentuk formulasi pada insektisida kimia pada umumnya dapat berupa cairan (EC), bubuk (WP), tepung embus (dust) dan butiran (G). Sedangkan bentuk formula bioinsektisida, khususnya NPV adalah bubuk (wetable powder), karena mempermudah dalam penyimpanan maupun aplikasinya serta efektivitasnya dapat dipertahankan sampai waktu yang cukup lama (Narayanan 1987). Teknik formulasi dilakukan dengan cara mengambil 100 ml suspensi polyhedral stock dengan konsentrasi 1×10^9 PIBs/ml dicampur dengan laktosum atau kaolin sebanyak 100 gram sehingga membentuk pasta. Proses selanjutnya pasta dituangkan ke dalam nampan plastik sedikit demi sedikit hingga merata menutupi permukaan nampan plastik, makin tipis lapisan yang terbentuk akan semakin cepat proses pengeringannya (tidak dikeringkan dengan panas matahari tetapi cukup dikering anginkan). Setelah pasta kering kemudian diambil dan ditumbuk sampai halus sehingga didapatkan *HaNPV* dalam bentuk "wetable powder" (WP).

4. Teknik penyimpanan *HaNPV*

Setelah pembuatan formula, perlu dipertimbangkan faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas dan efektivitas NPV dalam penyimpanan antara lain: temperatur, kelembaban dan sinar ultra violet. NPV dapat disimpan dalam bentuk larva mati terinfeksi NPV, larutan NPV dan bubuk kering (WP). Penyimpanan dalam bentuk bangkai larva atau larutan biasanya mempunyai masa simpan 1–6 bulan, selebihnya akan mengalami penurunan efektivitas yang disebabkan berkurangnya jumlah polihedral (Ignoffo 1967). NPV yang disimpan dalam bentuk bubuk kering (WP) pada suhu -20°C , tidak akan mengurangi efektivitas dan stabilitasnya dapat dipertahankan hampir selama 20 tahun (Cunningham 1982; Narayanan 1987).

HASIL-HASIL PENELITIAN *HaNPV*

Beberapa hasil penelitian *HaNPV* yang diformulasikan dengan bahan pembawa untuk mengendalikan hama *H. armigera* dapat disajikan sebagai berikut.

1. Jenis Bahan Pembawa

Untuk mempertahankan *HaNPV* agar tetap persisten di lapang, serta efektivitasnya tidak menurun akibat radiasi sinar matahari khususnya sinar ultra violet maka diperlukan rekayasa formula *HaNPV*. Hasil penelitian yang dilakukan dengan infestasi buatan pada masing-

masing perlakuan yang diinfestasikan dengan 100 larva hasil biakan dari laboratorium dan diaplikasikan dengan *HaNPV* yang diformulasikan dengan bahan pembawa sebanyak 5 ml/ha dari volume semprot 300 l/ha, kemudian ditutup dengan sangkar kain kasa, menunjukkan bahwa efektivitas formulasi *HaNPV* dengan semua bahan pembawa menunjukkan penurunan daya bunuh yang tinggi saat diaplikasikan di lapangan (Tabel 1).

Mortalitas larva yang rendah tersebut, masih perlu diuji kembali untuk meningkatkan keefektifan *HaNPV* di lapangan. Tingkat mortalitas yang rendah masih belum sesuai seperti yang dibakukan oleh Mumford dan Norton (1984), yaitu nilai keefektifan *HaNPV* berdasarkan tingkat mortalitas larva harus mencapai 70–80%. Untuk meningkatkan daya bunuh *HaNPV* terhadap *H. armigera* maka diperlukan penambahan dosis bahan pembawa.

2. Jumlah Bahan Pembawa untuk Formulasi NPV

Peningkatan jumlah bahan pembawa untuk formulasi *HaNPV* diharapkan dapat meningkatkan efektifitas *HaNPV* sehingga virus tersebut akan tetap persisten dan patogenis di lapang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan bahan pembawa 40 ml/ha dari volume semprot 600 l/ha mortalitas ulat dapat mencapai 57–70% (Tabel 2).

Rata-rata mortalitas *H. armigera* di laboratorium dengan bahan pembawa Tween, Sucrose, Kaolin, dan tanpa bahan pembawa (formula) dengan dosis bahan pembawa 5, 10, 20, dan 40 ml atau g/ha menunjukkan tingkat mortalitas yang tinggi yaitu antara 63–90%, sedangkan di lapangan dengan perlakuan yang sama tingkat mortalitasnya sangat rendah antara 10–70% dengan penurunan keefektifan yaitu antara 22,22–84,13%. Hal ini terjadi karena bahan pembawa masih belum mampu untuk mempertahankan *HaNPV* dari pengaruh sinar ultra violet matahari sehingga mortalitas larva masih rendah. Seperti dilaporkan Young (2001) dan Okada (1977) bahwa di lapangan NPV akan mengalami penurunan keefektifannya akibat pengaruh sinar matahari.

3. Saat Aplikasi dan Bahan Pelindung *HaNPV* yang Efektif di Lapangan

Efektifitas *HaNPV* dapat ditingkatkan pada perlakuan Tween, kaolin, dan tetes tebu dengan dosis bahan pembawa 20 dan 40 ml atau g/ha, apabila pelaksanaan aplikasi di lapangan dila-

Tabel 1. Pengaruh bahan pembawa terhadap rata-rata mortalitas larva *H. armigera* di Laboratorium, Rumah Kaca dan Lapang (IP2TP Mojosari) MK 1996.

Perlakuan/ formula (ml, g/ha)	Mortalitas larva <i>H. armigera</i> (%)		
	Labora- torium	Rumah Kaca	Lapang
Polyvinil	55 b	30 cd	25 bc
Tween 80	85 a	72 a	57 a
Kaolin	82 a	60 a	50 a
Tetes tebu	75 a	45 cd	40 ab
Sukrosa	90 a	67 a	50 a
Arang	47 b	30 cd	22 bc
Kontrol	90 a	15 d	13 c
BNT 5%	16,64	16,06	21,19
KK (%)	12,82	20,30	32,75

Sumber: Bedjo 1997.

Tabel 2. Pengaruh bahan pembawa terhadap rata-rata mortalitas larva *H. armigera* di laboratorium, Rumah Kaca dan Lapang (IP2TP Mojosari) MK 1996.

Perlakuan/ formula (ml, g/ha)	Mortalitas ulat <i>H. armigera</i> (%)			Penu- runan efekti- vitas (%)
	Lab.	R. Kaca	Lapang	
Tween 5	63 e	33 g	13 gh	79,36
Tween 10	70 de	53 de	26 cde	62,86
Tween 20	86 ab	76 ab	56 b	34,88
Tween 40	90 a	87 a	70 a	22,22
Sukrosa 5	66 de	33 g	13 gh	80,30
Sukrosa 10	73 cde	46 ef	23 def	68,49
Sukrosa 20	83 abc	60 cd	26 cde	68,67
Sukrosa 40	86 ab	80 ab	56 b	34,88
Kaolin 5	63 e	36 fg	10 h	84,13
Kaolin 10	66 de	43 efg	57 c	31,33
Kontrol	70 de	36 fg	16 fgh	75,76
Kaolin 20	76 bcd	63 cd	30 cd	60,53
Kaolin 40	83 abc	70 bc	20 efg	71,43
BNT 5%	10,06	11,12	9,24	
KK (%)	7,90	12,59	17,92	

Sumber: Bedjo 1998.

Tabel 3. Pengaruh bahan pembawa terhadap rata-rata persentase mortalitas larva *H.armigera* di Rumah Kaca dan Lapang (Inlitkabi Kendalpayak) MK 1998.

Perlakuan/ formula ml, g/ha	Mortalitas ulat (%)		Penurunan efektifitas (%)	Lama ulat bertahan hidup (hari)	
	R. Kaca	Lapang		R. Kaca	Lapang
Tween 20	76 c	66 c	13,15	5	10
Tween 40	98 a	86 a	21,24	4	7
Kaolin 20	67 e	60 c	10,45	6	10
Kaolin 40	92 b	72 b	21,74	5	9
T. tebu 20	63 e	46 e	26,98	6	12
T. tebu 40	85 c	62 cd	27,06	5	10
<i>Ha</i> NPV tanpa formula	43 e	28 e	34,88	8	12
BNT 5%	5,87	5,23			
KK (%)	5,22	5,81			

Sumber: Bedjo 1999.

kukan pukul 16.00, sehingga mortalitas larva dapat mencapai antara 72–86% dengan penurunan keefektifan yang rendah yaitu antara 13,15–21,74% (Tabel 3).

Pengaruh sinar matahari juga mempengaruhi lama ulat bertahan hidup. Seperti dilaporkan oleh Maddox (1975) dan Starnes *et al.* (1993) bahwa kematian ulat akibat NPV sangat bergantung pada strain virus, jenis inang, stadium inang, banyaknya polyhedra, dan suhu.

Mengingat *Ha*NPV sebagai salah satu agen pengendalian hayati telah terbukti berpotensi tinggi, efektif, dan berhasil diperbanyak dan diformulasikan, maka NPV layak dikembangkan sebagai biopestisida untuk pengendalian hayati pada tanaman kedelai.

KESIMPULAN

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa:

1. Formula pengendalian hayati dengan *Ha*NPV sebagai bahan aktif dan bahan pembawa Tween, atau Kaolin sampai 40 ml/ha dari volume semprot, sangat efektif dan mampu melindungi/mengurangi pengaruh sinar matahari, sehingga patogenesitasnya cukup tinggi terhadap *H. armigera* di lapang.
2. Saat aplikasi yang lebih tepat dilakukan pada pukul 16.00 sehingga *Ha*NPV akan lebih efektif terhadap *H. armigera*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bedjo. 1997. Uji Keefektifan *SINPV* dan *Ha*NPV dengan Bahan Pembawa untuk Pengendalian Hama Kedelai. Makalah Seminar Regional HPTI. Majalah Ilmiah Pembangunan UPN Veteran Surabaya. pp. 108–114.
- Bedjo. 1998. Penentuan bahan pelindung aplikasi NPV yang efektif di lapang. Laporan Teknis Hasil Penelitian Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Balitkabi. 13 hlm.
- Bedjo. 1999. Pengaruh jumlah dan jenis bahan pembawa terhadap efektifitas NPV. Makalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Balitkabi. 11 hlm.
- Bell, V.S. and C.L. Romine. 1980. Tobacco Budworm Field Evaluation of microbial Control in Cotton using *Bacillus thuringiensis* and Nuclear Polyhedrosis Virus with a Feeding ajuvant. *J. Econ. Entomol.* 73: 427–430.
- Cunningham, J.C. 1982. Field Trials With Baculoviruses: Control of Forest Insect Pest, in *Microbial and Viral Pesticides*, Kurstak, E., Marcel Dekker, New York. 335 pp.
- Deacon, J.W. 1983. Microbial control of plant pest and diseases. Van Nostrand Reinhold (VK) Co. Ltd. Berkshire. England. 88 pp.
- Endo, S., Sutrisno, I.M. Samudra, A. Nugraha, J. Soeyitno, and T. Okada. 1988. Insecticide Susceptibility of *Spodoptera litura* F. Collected from three Location in Indonesia. Seminar Bogor Res. Instt. for Food Crops, 24 June 1988. 18 p.
- Granados, R.R. and B.K. William. 1986. In Vivo Infection and Replication of Baculoviruses in the Biology of Baculoviruses. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 90–104.

- Hackett, K. J., Boore, A., Deming, C., Buckley, E., Camp, M., and Shapiro, M. 2000. *Helicoverpa armigera*. Granulovirus interference with progression of *H. zea* larvae. *J. of Invertebrate Pathol.* 75: 99–106.
- Ignoffo, C.M. 1967. Possibility of Mass producing Insect Pathogens. pp. 91–117 *In Proc. of the Internat. Colloquium on Pathology and Microbial Control*. Wageningen. The Netherlands, North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Ignoffo, C.M. 1973. Development of a Viral Insecticide Concept to Commercialization. *Exp. Parasit.* 33: 380–406.
- Ignoffo, C.M. and E.L. Montoya. 1976. The effects of chemical insecticides and insecticidal adjuvants on a *Heliothis* Nuclear Polyhydrosis Virus. *J. Invertebr. Pathol.* 8–409.
- Ignoffo, C.M and T.L. Cough. 1981. The Nucleo polyhydrosis virus of *Heliothis* spp. as a microbial Insecticide. pp. 329–362 *In H.P. Burges (Ed) Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970–1980*. Acad Press London and New York.
- Maddox, J.V. 1975. Use of diseases in pest management. pp. 184–233 *In R.L. Metcalf and W.H. Luckman (Ed). Introduction to Insect Pest Management*. John Wiley & Sons, New York.
- Mumford, J.D. and G.A. Norton. 1984. Economics of decision making in pest management. *Ann. Rev. Entomol.* 29: 157–174.
- Narayanan, K. 1987. Safety and formulation of NPV of *Heliothis* spp. *In Training on biological control of cotton Bollworm (2–30 September 1987)*. 21 p.
- Okada. 1977. Studies on the utilization and mass production of *Spodoptera litura* Nuclear Polyhydrosis Virus for Control of tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* F. *Rev. PI. Protec. Res.* 10: 102–128.
- Stairs, G.R., and Fraser, T. 1981. Changes in Growth and Virulence of Nuclear Polyhedrosis Virus. *J of Invertebrate Pathol* 35: 230–235.
- Starnes, R.L., C.L. Liu, and P.G. Marrone. 1993. History, use, and future of Microbial insecticides. *Am. Entomol. Summer.* 83–91.
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Acad Press, Inc, Toronto. 666 pp.
-