

유기산, 기능성물질 혼합에 의한 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 병원성 증진효과

김선곤* · 박종대 · 김도익 · 박진영¹ · 최형국

전남농업기술원식물환경연구과, ¹신안군농업기술센터

Enhanced Effectiveness of *Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus with Organic Acids and Functional Matters

Seon-Gon Kim*, Jong-Dae Park, Do-ik Kim, Jing-Young Park¹ and Hyeong-Gug Choi

Div. of Plant Environ. Res., Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 520-715, Republic of Korea

¹Sinan Agricultural Technology Center, Mokpo 530-380, Republic of Korea

ABSTRACT : This experiment was conducted to improve activity of *Spodoptera litura* Nucleopolyhedrovirus (SINPV) combined with organic and functional matters. In combination of SINPV mixed with organic matters, LT₅₀ values of SINPV 1.0 × 10⁵ PIBs/ml combined with boric acid of 2,000 ppm were 4.5 days. It was 1.5 days shorter than SINPV 1.0 × 10⁵ PIBs/ml alone. The body weight of larva infected with SINPV 1.0 × 10⁵ PIBs/ml combined with boric acid of 2,000 ppm was not increased, and *S. litura* was completely dead in 7 days after treatment. It suggested that addition of boric acid in SINPV application enhanced the pathogenicity against *S. litura* larvae. In laboratory experiment of combination of SINPV with functional matters, LT₅₀ values of SINPV 1.0 × 10⁴ PIBs/ml alone were 7.3 days, but those of SINPV 1.0 × 10⁴ PIBs/ml with electrolyzed oxidizing water, pyroligneous liquor or kitosan were 10.4, 9.3 and 11.2 days, respectively. Functional matter could be suppressed the insecticidal activity of SINPV

KEY WORDS : Tobacco cutworm, *Spodoptera litura*, Nucleopolyhedrovirus, Organic acids, Enhanced Effectiveness

초 록 : 담배거세미나방 핵다각체병바이러스(SINPV)의 살충력 증가를 위하여 유기산 및 기능성 물질을 첨가하여 활성을 검정한 결과는 다음과 같다. 핵다각체병바이러스(NPV) 1 × 10⁵ PIBs/ml에 ascorbic acid, succinic acid, sulfanilic acid 2,000 ppm을 바이러스 1 × 10⁵ PIBs/ml에 첨가하였을 때 각각 7.0일, 7.3일, 10.7일로 바이러스 단독으로 처리한 6.0일보다 더 높게 나타났으나 boric acid 2,000 ppm을 첨가한 경우 LT₅₀은 4.5일로서 단독처리보다 1.5일 짧았다. 유충 체중변화에서도 boric acid는 2,000 ppm에서 7일째 이후 생존하는 개체가 없어 가장 효과가 좋은 것으로 나타났으며 1,000 ppm과 500 ppm에서도 체중이 증가하지 않아 바이러스 활성 증진을 지속시키는 물질로 판단되었다. 기능성 물질과 혼합 처리에서는 바이러스 1.0 × 10⁴ PIBs/ml 단독 처리는 LT₅₀이 7.4일이 걸리는 반면 담배거세미나방 핵다각체병바이러스와 전해산화수, 키토산, 목초액 혼합처리는 모두 살충기간이 길어져 혼합효과가 없었다. 담배거세미나방 핵다각체병바이러스 농도 1.0 × 10⁶, 10⁸ PIBs/ml와 기능성 물질을 혼합하였을 때 같은 경향으로 오히려 바이러스 병원성 억제효과가 나타났다.

검색어 : 담배거세미나방, 핵다각체병바이러스, 유기산, 증진효과

*Corresponding author. E-mail: soung@jares.go.kr

최근까지 다른 해충과 마찬가지로 담배거세미나방 (*Spodoptera litura*)도 화학적 방제가 주를 이루고 있으나 약제 저항성으로(Kim and Shin, 1987) 방제가 어려워 재배작물이 큰 피해를 입을 뿐 아니라 저항성해충의 출현, 인축이나 동식물에 대한 직·간접적인 피해와 잔류성으로 인한 환경오염 및 생태계 파괴 등의 심각한 문제를 야기 시키고 있다. 이를 해결하기 위한 방안중 하나로 생물적 방제법을 적극 도입하여 화학적 방제를 보완 또는 대체하는 수단으로서 해충종합관리 체계를 위한 연구가 활발하며 그 중에서도 곤충병원성인 세균, 바이러스, 사상균, 원생동물 등을 이용한 해충 방제제의 연구에 큰 비중을 두고 있다. 이 중에서 곤충 바이러스는 기주곤충에 대한 특이성이 높아(Oliver, 1964), 농작물이나 산림해충 방제에 효과적이어서 이미 일부 선진국에서는 살충제가 상품화되고 있다(Kurstak, 1982).

곤충바이러스를 이용한 생물적 방제제는 Ignoffo (1973)가 *Heliothis zea* 방제를 위해 처음 바이러스 살충제 Elcar를 상품화한 이후 새로운 방제제로 대두되고 있다. 그러나 핵다각체병바이러스(nucleopolyhedrovirus)는 태양자외선에 의하여 급격히 불활성화(McLeod *et al.*, 1977) 되기 때문에 제형화를 위해서는 필수적으로 바이러스를 안정화시킬 수 있는 물질의 선발이 필요하다. 새로운 바이러스 안정화 물질로서 형광표백제(fluorescent brightner)는 LC₅₀을 *Lymantria dispar* multiple-embedded nuclear polyhedrosis virus (LdMNPV) 214배, *Autographa californica* multiple-embedded nuclear polyhedrosis virus (AcMNPV) 41배를 감소시키고 바이러스를 보호 잔존활동을 향상시켰다(Dougherty *et al.*, 1996). 왕담배나방 바이러스에 0.5% Ranipal, 0.2% indigo, 1% urea, 0.5% Jaggery, 0.5% sucrose, 3% egg white, 1% chickpea 가루 첨가가 유충의 사충율을 증가시키고 LT₅₀을 바이러스 단독 처리구보다 감소시켰다(Sonalka *et al.*, 1998). 또한 *Choristoneura occidentalis*에서 1%의 형광표백제가 *Choristoneura fumiferana* nucleopolyhedrovirus (CfMNPV)와 혼합되었을 때 LD50이 크게 감소되어 실험실계통(2.5-3.5배), 포장계통(7.6-11배)의 바이러스 활성이 증진되며(Li and Otvos, 1999), CfMNPV + Blankophor (RKH, BBH, PI67, HRS), Tinopal (LPW) 1% 농도에서는 1.76-13.1배 바이러스 활성이 증가하고 살충에 요구되는 시간은 30-72% 단축된다고 하였다(Li and Otvos, 1999).

따라서 본 연구는 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 제형화를 위한 바이러스의 안정화 물질을 선별하여, 초기 사충율을 향상시키고자 유기산과 기능성 물질을 혼합한 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 방제효과를 검증하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

담배거세미나방 증식

담배거세미나방은 포장에서 유충을 채집하여 Im *et al.* (1988)의 인공사료 조성 성분 중 강낭콩 분말을 국내에서 손쉽게 구입 할 수 있는 콩 분말로 대체하여 사용하였다. 번데기를 수거하여 유산지로 만든 삼각통(가로 50, 세로 30, 높이 30 cm)에 넣고 우화 시켰으며 유산지 통안에 10% 설탕물을 공급하여 산란을 유도하였다. 우화한 성충이 산란한 부분의 유산지를 난과 함께 떼어내어 인공사료(5±0.2 g) 위에 난괴를 접종하여 플라스틱 용기(20×12×12 cm)내에서 2령까지 사육하였다. 3령부터는 cannibalism을 막기 위하여 개체 사육용기(4×4×3 cm)에 1마리씩 넣고 4-5일 간격으로 인공사료가 마르면 교체하면서 번데기를 유도하였다. 충의 퇴화를 막기 위해 10세대 이상 누대 사육한 개체는 wild type과 교미시켜 충의 활력을 유지하였으며, 사육조건은 온도 25±2°C, RH 65%, 광주기 16L:8D이었다.

핵다각체병바이러스 증식

담배거세미나방 핵다각체병바이러스는 농업과학기술원 농업생물부 농업해충과 곤충병리연구실에서 분양 받아 포르말린을 넣지 않은 인공사료(5±0.2 g) 표면에 500 µl의 바이러스를 처리한 후 1시간 정도 음건시켜 개체 사육용기(4×4×3 cm)에 넣고 4령 유충이 완전히 섭식하게 한 후 사육하면서 죽은 유충을 수확하였다. Im *et al.* (1989)의 방법에 따라 수확한 이 병충에 10배(v/w)의 0.01% SDS 용액을 가하여 마쇄한 후 이중 거즈로 여과하고 1,000 rpm으로 5분 원심 분리하여 유충의 찌꺼기를 제거한 후 2-3회 3,000 rpm의 저속 원심분리와 40-65% 설탕 밀도구배 원심(25,000 rpm, 60 min.)으로 다각체를 순화시켜 바이러스 농도가 1.0×10⁹ PIBs/ml 되도록 조제하여 이 바이러스 용액을 -20°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

핵다각체병바이러스와 유기산 혼합효과

인공사료는 30 ml 용량의 뚜껑이 있는 투명 플라스틱 컵에 분주(5 ± 0.2 g)하여 4°C 냉장고에 보관 사용하였다. 시험곤충은 부화 후 7일째인 유충을 사용하였으며 바이러스 농도는 1.0×10^5 PIBs/ml을 사용하였다. 유기산은 ascorbic acid, succinic acid, sulfanilic acid, boric acid, fumaric acid 등 5종이었으며, 농도는 각각 500 ppm, 1,000 ppm, 2,000 ppm, 4,000 ppm으로 바이러스와 혼합 살포하였고, 유기산 2,000 ppm + 바이러스 1.0×10^5 PIBs/ml 그리고 무처리와 비교하였다. 온도조건은 25°C에서 각각 개체 사육하면서 살충율을 조사하였고 처리당 10마리씩 5반복 3회 실시하였다. 검정의 결과는 Abbot식으로 살충율을 보정하여 Finney (1971)의 probit분석법에 의하여 LT_{50} 을 산출하였다.

핵다각체병바이러스와 기능성물질 혼합 효과

일반적으로 병해충 예방용으로 사용되고 있는 전해

산화수, 키토산, 목초액 각 100배에 바이러스를 1.0×10^4 , 10^6 , 10^8 PIBs/ml 농도로 혼합하여 전기한 유기산 혼합 효과 검정과 같은 방법으로 수행하였다.

결과 및 고찰

유기산 혼합에 의한 병원성 검정

담배거세미나방 핵다각체병바이러스는 살포 후 4일째부터 살충효과가 나타나고 행동이 느려지며 죽기 직전까지 섭식활동을 계속하므로 살포 후 바이러스의 활성을 지속시키는 것이 중요하다. 따라서 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 활성을 유지하고 안정화시킬 수 있는 첨가물질을 선별하기 위하여 핵다각체병바이러스 농도를 1.0×10^5 PIBs/ml로 하고 몇 가지 유기산은 500, 1,000, 2,000, 4,000 ppm의 농도를 각각 처리하여 LT_{50} 과 LT_{95} 를 구한 결과(Table 1) 담배거세미나방 핵다각체병바이러스 1×10^5 PIBs/ml에 ascorbic acid, succinic acid, sulfanilic acid 2,000 ppm을 첨가

Table 1. Values of lethal time of *S. litura* larva treated with various organic acids and SINPV

Treatment	LT_{50} (95%CL)	LT_{95} (95%CL)
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml	6.0(5.1-6.9)	12.2(10.1-17.1)
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml + AA ¹⁾ 4,000 ppm	7.9(3.0-8.4)	20.1(15.7-30.3)
" + AA 2,000 ppm	7.0(3.2-7.9)	20.2(16.0-29.3)
" + AA 1,000 ppm	8.1(7.3-8.9)	19.4(15.8-26.9)
" + AA 500 ppm	16.7(13.1-29.2)	62.8(33.8-298.7)
AA 2,000 ppm alone	ND ⁶⁾	ND
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml + SuA ²⁾ 4,000 ppm	7.3(6.2-8.4)	18.0(14.7-22.9)
" + SuA 2,000 ppm	7.3(6.6-8.1)	18.2(15.0-24.8)
" + SuA 1,000 ppm	8.8(7.8-10.1)	26.7(19.9-44.4)
" + SuA 500 ppm	12.2(11.0-14.4)	28.8(21.9-44.8)
SuA 2,000 ppm alone	ND	ND
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml + SuLA ³⁾ 4,000 ppm	12.8(10.4-15.2)	36.8(25.1-48.3)
" + SuLA 2,000 ppm	10.7(9.3-13.0)	34.7(24.0-70.5)
" + SuLA 1,000 ppm	7.6(6.7-8.7)	26.4(20.0-41.8)
" + SuLA 500 ppm	11.0(9.7-12.9)	32.6(23.7-58.1)
SuLA 2,000 ppm alone	ND	ND
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml + BA ⁴⁾ 4,000 ppm	4.6(3.9-5.1)	6.5(5.9-8.4)
" + BA 2,000 ppm	4.5(4.1-4.8)	6.8(6.1-8.1)
" + BA 1,000 ppm	6.7(6.1-7.4)	14.2(11.9-19.0)
" + BA 500 ppm	11.3(10.0-13.5)	28.9(21.2-51.8)
BA 4,000 ppm alone	13.5(11.2-19.8)	33.4(24.8-53.6)
BA 2,000 ppm alone	13.4(11.4-18.3)	32.3(21.6-49.7)
BA 1,000 ppm alone	14.9(12.0-24.4)	42.6(25.5-159.8)
BA 500 ppm alone	ND	ND
NPV 1.0×10^5 PIBs/ml + FA ⁵⁾ 4,000 ppm	9.4(8.4-10.6)	18.6(12.8-20.1)
" + FA 2,000 ppm	8.6(7.9-9.3)	15.0(13.0-19.0)
" + FA 1,000 ppm	10.0(9.16-11.3)	19.3(6.0-28.5)
" + FA 500 ppm	11.9(10.7-14.5)	22.9(17.5-40.7)
FA 2,000 ppm alone		ND ND

¹⁾Ascorbic acid ²⁾Succinic acid ³⁾Sulfanilic acid ⁴⁾Boric acid ⁵⁾Fumaric acid ⁶⁾ND : Not Dead

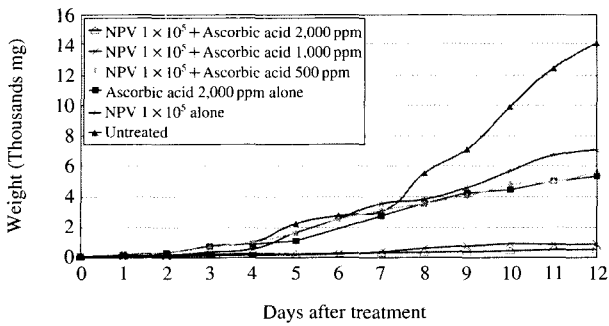


Fig. 1. Changes of body weight of *Spodoptera litura* larva mixed with ascorbic acid and SINPV on artificial diet.

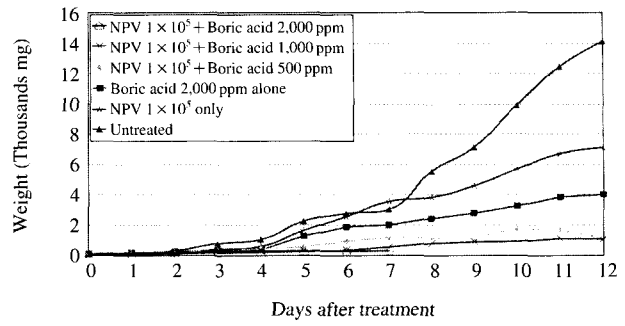


Fig. 4. Changes of body weight of *Spodoptera litura* larva mixed with boric acid and SINPV on artificial diet.

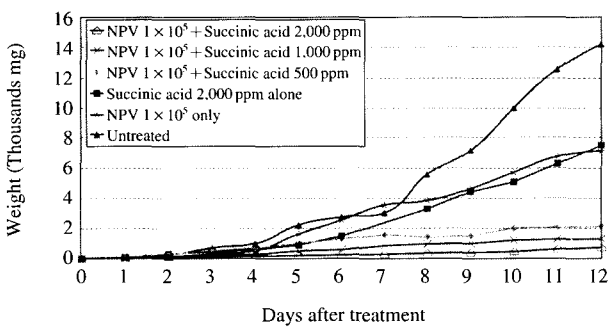


Fig. 2. Changes of body weight of *Spodoptera litura* larva mixed with succinic acid and SINPV on artificial diet.

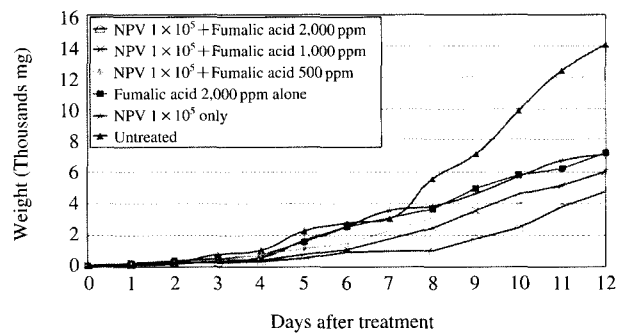


Fig. 5. Changes of body weight of *Spodoptera litura* larva mixed with Fumalic acid and SINPV on artificial diet.

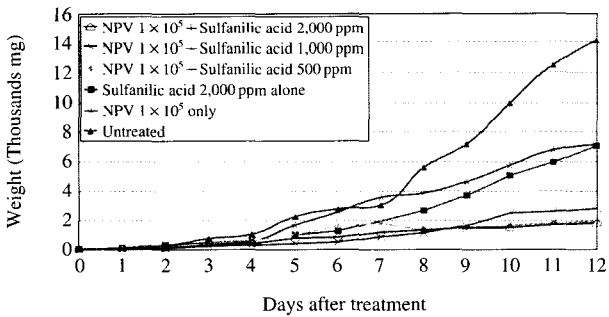


Fig. 3. Changes of body weight of *Spodoptera litura* larva mixed with sulfanilic acid and SINPV on artificial diet.

하였을 때 각각 7.0일, 7.3일, 10.7일로 담배거세미나방 핵다각체병바이러스를 단독으로 처리한 6.0일보다 더 높게 나타났으나 boric acid 2,000 ppm을 첨가한 경우 LT_{50} 은 4.5일, LT_{95} 는 6.8일로 담배거세미나방 핵다각체병바이러스를 단독 처리한 경우보다 짧았다. 또한 boric acid 한가지만을 사용했을 때에도 담배거세미나방 핵다각체병바이러스 단독 처리보다도 살충기간이 길게 나타났다. 따라서 검정한 유기산중 boric acid 2,000 ppm에서 LT_{50} 과 LT_{95} 치가 가장 짧게 나타나 효

과가 높을 것으로 판단되며 이는 담배거세미나방의 방제에 자외선 차단제인 boric acid (BA, 0.1%)와 바이러스 살포가 높은 유충 살충력을 보이고(Kulkarni *et al.*, 1999), 25% boric acid 또는 tannic acid의 첨가는 바이러스에 대한 담배거세미나방의 사충율을 증가시킨다는 보고(Dougherty *et al.*, 1996)와 일치하였다.

유충의 체중변화를 보면 ascorbic acid 2,000과 1,000 ppm과 바이러스 혼합처리에서는 12일까지 체중증가 폭이 적었으나 500 ppm 혼합처리와 단독처리에서는 바이러스 단독처리와 비슷하게 체중증가 폭이 많았다(Fig. 1). Succinic acid도 ascorbic acid와 마찬가지로 2,000, 1,000 ppm과 바이러스 혼합처리에서 유충의 체중 증가폭이 적었으며 500 ppm 혼합처리에서도 낮은 체중 증가를 보였다(Fig. 2). sulfanilic acid도 바이러스와 혼합처리에서 체중증가폭이 단독처리보다는 낮았지만 ascorbic acid와 succinic acid보다 커서 효과가 미미하였다(Fig. 3).

자외선 차단제로 알려진 boric acid 2,000 ppm과 담배거세미나방 핵다각체병바이러스를 혼합하여 처리한 경우 7일 이후 생존하는 개체가 없어 가장 효과가 좋

Table 2. Values of lethal time of *S. litura*¹⁾ larva treated with SINPV and functional materials on artificial diet

Treatment	LT ₅₀ (95% CL)	LT ₉₅ (95% CL)
NPV 1.0 × 10 ⁴ PIBs/ml		
+EO water ²⁾	10.4(9.8-11.0)	20.0(17.8-23.4)
+Kitosan ³⁾	9.3(8.7-9.9)	20.9(18.3-25.2)
+PL ⁴⁾	11.2(9.1-13.5)	20.2(18.6-23.1)
alone	7.4(5.6-9.5)	17.7(12.5-28.3)
NPV 1.0 × 10 ⁶ PIBs/ml		
+EO water	7.7(7.4-9.3)	13.0(12.0-14.4)
+Kitosan	8.7(8.2-9.8)	19.4(17.1-23.0)
+PL	9.0(7.2-10.0)	19.6(17.4-23.4)
alone	5.8(4.2-7.3)	12.5(11.7-20.4)
NPV 1.0 × 10 ⁸ PIBs/ml		
+EO water	7.5(7.1-7.9)	12.7(11.7-14.1)
+Kitosan	8.7(8.2-9.3)	19.4(17.1-23.1)
+PL	9.0(8.4-10.4)	18.9(16.6-22.6)
alone	5.9(4.2-7.5)	11.2(8.6-18.5)

¹⁾ 2nd instar larva; ²⁾ electrolyzed oxidizing water;

³⁾ Kitosan(Biotech co.) 1,000dilution;

⁴⁾ Pyrolygneous liquor 1,000 dilution

은 것으로 나타났으며, 1,000 ppm과 500 ppm 혼합에서도 체중이 증가하지 않아 담배거세미나방 핵다각체병 바이러스 활성을 지속시키는 물질로 판단되었다(Fig. 4). Fumalic acid는 모든 처리에서 유충의 증가폭이 커서(Fig. 5) 첨가제로 이용하기는 어려울 것으로 판단된다. Shapiro and Bell (1982)은 짚시나방 유충에서 NPV와 유,무기산과 혼합살포에서 boric acid 0.1과 0.25%에서는 NPV 증진효과가 없었으나 0.5%는 2배, 1.0% 11배의 증진효과가 있었으며, LT₅₀도 줄었다고 하였다. 또한 virus + 1% boric acid를 분말과 과립형으로 제형화하여 옥수수에서 *Spodoptera frugiperda* 유충에 처리했을 때 virus만을 제형화 한 것보다 살충력이 현저히 증가된다고 하였다(Cisneros et al., 2002). 이상의 결과로 보아 포장에서 담배거세미나방 핵다각체병 바이러스의 활성을 유지시키기 위해서 boric acid와 같은 보조제를 첨가하여 제형화를 하면 바이러스 단독으로 제형화를 하는 것보다는 살충력을 현저히 증가시키고 안정화를 시킬 수 있을 것으로 생각되어진다.

기능성 물질 혼합에 의한 병원성 검정

일반 농가에서 오이 흰가루병 방제에 많이 사용하고 있는 산해전위수(Lee et al., 2000) 등 기능성물질과 핵다각체병바이러스의 혼합효과를 검정하기 위하여 부화 후 7일 된 담배거세미나방 유충에 담배거세미나방 핵다각체병바이러스와 기능성물질인 전해산화수, 키토산, 목초액을 혼합하여 인공사료 표면에 처리한

후 LT₅₀ 및 LT₉₅ 값을 조사하였다(Table 2). 담배거세미나방 핵다각체병바이러스 1.0 × 10⁴ PIBs/ml 단독 처리는 LT₅₀ 값이 7.37일인 반면 전해산화수, 키토산, 목초액은 각각 9.29, 11.24, 7.37일로 살충기간이 길어졌다. 담배거세미나방 핵다각체병바이러스 10⁶ PIBs/ml에서는 각각 7.74일, 8.72일, 8.99일, 10⁸ PIBs/ml에서는 7.52일, 8.73일, 9.03일로 1.0 × 10⁴-10⁸ PIBs/ml까지 같은 경향으로 이러한 첨가물질이 담배거세미나방의 살충효과보다는 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 병원성을 억제하는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 보아 기능성물질로 알려진 전해산화수, 키토산, 목초액 등 SINPV와 혼합 살포를 하지 않는 것이 효과적일 것으로 판단되었다.

Literature Cited

- Cisneros, J., J.A. Perez, D.I. Penagos, R.V. Jaime, D. Goulson, P. Caballero, R.D. Cave and T. Williams. 2002. Formulation of a nucleopolyhedrosis with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize. Biol. Contr. 23: 87-95.
- Dougherty, E.M., K.P. Guthrie and M. Shapiro. 1996. Optical brighteners provide baculovirus activity enhancement and UV radiation protection. Biol. Contr. 7: 71-74.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis (3rd Ed.). Cambridge Univ. Press, Cambridge. 333p.
- Ignoffo, C.M. 1973. Development of a viral insecticides: Concept to commercialization. Exp. Parasitol. 33: 380-406.
- Im, D.J., K.M. Choi, M.H. Lee, B.R. Jin and S.K. Kang. 1989. *In vitro* mass production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus. Korean J. Appl. Entomol. 28: 82-87.
- Im, D.J., B.S. Park, B.R. Jin K.M. Choi and S.K. Kang. 1988. Pathogenicity of nuclear polyhedrosis virus isolated from the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. Korean J. Appl. Entomol. 27: 219-224.
- Kim, C.H. and H.Y. Shin. 1987. Studies on bionomics and control of tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius in southern part of Korea. J. Inst. Agr. Res. Util. Gyeongsang Natl. Univ. 21-2: 105-122.
- Kulkarni, G.G., S.S.R. Kumar, P.S. Hugar and K.A. Kulkarni. 1999. Persistence of NPV against *Spodoptera litura* Fab. on strawberry in transitional tract of Karnataka. Ann. Agri. Bio. Res. 4: 45-47.
- Kurstak, E. 1982. In microbial and viral pesticides. pp. 335-507. Dekker, New York.
- Lee, Y.H., K.H. Cha, S.J. Ko, I.J. Park, B.I. Park and K.Y. Seong. 2000. Evaluation of electrolyzed oxidizing water as a control agent of cucumber powdery mildew. Plant Patho. J. 16: 206-210.
- Li, S.Y. and I.S. Otvos. 1999. Comparison of the activity enhancement of a baculovirus by optical brighteners against laboratory and field strains of *Choristoneura occidentalis* (Lepidoptera: Tortricidae). J. Econ. Entomol. 92: 534-538.
- 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: 237-241.
- Oliver, A.D. 1964. Studies on the biological control of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, in Louisiana. J. Econ. Entomol.

- 57: 314~318.
- SAS Institute. 1988. SAS/STAT user's guide. release 6.03. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC.
- Shapiro, M. and R.A. Bell. 1982. Enhanced effectiveness of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus formulated with boric acid. Ann. Entomol. Soc. Am. 75: 346~349.
- Sonalkar, V.U., S.D. Deshmukh, U.S. Satpute and S.T. Ingle. 1998. Efficacy of nuclear polyhedrosis virus in combination with adjuvants against *Helicoverpa armigera* (HBN). J. Soils Crops. 8: 67~69.

(Received for publication 5 February 2004;
accepted 9 March 2004)