

PENGARUH TINOPAL TERHADAP PATOGENISITAS *NUCLEOPOLYHEDROVIRUS* PADA *Spodoptera litura*

EFFECT OF TINOPAL TO NUCLEOPOLYHEDROVIRUS PATHOGENICITY *IN Spodoptera litura*

Ma'unah Ambarwati^{*1)}, Arman Wijonarko²⁾, dan Sedyo Hartono²⁾

¹⁾Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²⁾Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: amaunah@ymail.com

ABSTRACT

Susceptibility of the armyworm, Spodoptera litura (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) to nucleopolyhedrovirus was evaluated using droplet feeding methods. S. litura was originally collected from the field in Bantul and has been reared continuously in the laboratory using artificial diet. The tested instars were exposed a series concentration of nucleopolyhedrovirus (2×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 , 2×10^6 , 2×10^7 , 2×10^8 , 2×10^9 PIB/ml) which were added with Tinopal 0,5% and 1%. The result indicated that the larval mortality of 3rd, 4th, and 5th instars Tinopal, significantly different with the addition of 1% Tinopal. This addition increased the effectiveness of NPV for 235, 25117, and 6.6 million fold. The observation of the larval midgut which was treated by Tinopal, showed that Tinopal physically disrupt the peritrophic membrane. Therefore, it can be suggested that the Tinopal facilitates the entry of NPV to the host insect.

Key words: nucleopolyhedrovirus, pathogenicity, *S. litura*, Tinopal

INTISARI

Kepekaan larva instar 3, 4, dan 5 ulat grayak, *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), terhadap *nucleopolyhedrovirus* diuji dengan metode *droplet feeding*. Larva berasal dari lapangan yang dikembangkan di laboratorium dengan pakan buatan. Larva *S. litura* yang diuji diperlakukan dengan berbagai konsentrasi *S/NPV* (2×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 , 2×10^6 , 2×10^7 , 2×10^8 , 2×10^9 PIB/ml) yang ditambahkan Tinopal (0,5% dan 1%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan Tinopal 1% berpengaruh signifikan terhadap kematian larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5. Penambahan Tinopal pada larva instar 3, 4, dan 5 dapat meningkatkan efektivitas NPV sebesar 235, 24177, dan 6,6 juta kali. Pengamatan pada usus tengah larva yang diperlakukan dengan Tinopal, menunjukkan bahwa Tinopal secara fisik merusak membran peritropik sehingga diduga membantu masuknya virus ke dalam tubuh inangnyanya.

Kata kunci: *nucleopolyhedrovirus*, patogenisitas, *S. litura*, Tinopal

PENGANTAR

Ulat grayak (*S. litura* F.) merupakan salah satu hama penting pada tanaman pertanian di wilayah Asia. Hama ini bersifat polifagus dengan merusak daun, umbi, maupun akar. Di antara spesies tanaman utama di daerah tropis yang diserang antara lain padi, kedelai, jagung, kacang tanah, kapas, tembakau, teh, kopi, cokelat, kentang, kubis, tomat, cabai, ubi kayu, ubi jalar, talas, dan juga tanaman hias seperti bunga matahari, lili, dan mawar (CABI, 2005). Dari tahun 1986–1990 luas serangan ulat grayak mencapai 34.450 ha, dan terjadi hampir di seluruh provinsi di Indonesia kecuali DKI Jakarta dan Timor Timur, dan bila kerusakan daun mencapai 100%, maka kehilangan hasil bisa mencapai lebih dari 80%, bahkan dapat menyebabkan kegagalan panen/puso (Anonim, 1992).

Pengendalian hama ini telah dilakukan baik dengan aplikasi pestisida, maupun secara biologis

dengan memanfaatkan predator, parasitoid, dan menggunakan patogen (bakteri, fungi, dan virus) bahkan telah dicoba dengan menggunakan varietas tahan. Di India, *S. litura* dilaporkan telah resisten terhadap beberapa jenis pestisida seperti karbamat dan organofosfat, dengan rasio ketahanan 10–30 kali (Kranthi *et al.*, 2001). Selain itu, Ahmad *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa *S. litura* telah resisten terhadap deltametrin dengan rasio ketahanan 63 kali.

S. litura secara alami sangat peka terhadap *nucleopolyhedrovirus* (NPV) (Hunter-Fujita *et al.*, 1998). Kepekaan tertinggi terhadap NPV dapat menyebabkan kematian hingga 100% pada larva instar 2 (Pant *et al.*, 2002). *Nucleopolyhedrovirus* telah berkembang menjadi bioinsektisida dan efektif digunakan untuk mengendalikan *S. litura* yang menyerang tanaman sayuran, kapas, padi, dan kacang-kacangan di Cina, India, Taiwan (Moscardi, 1999; Bedjo, 2005). Pemanfaatan NPV di lapangan

banyak menemui kendala, di antaranya peka terhadap paparan sinar ultraviolet dan kurang efektif terhadap larva tua. Untuk itu perlu adanya penambahan bahan yang mampu melindungi NPV dari paparan sinar ultraviolet. Informasi mengenai bahan yang mampu mengatasi kendala tersebut belum banyak dilaporkan.

Salah satu upaya untuk mengatasi kepekaan terhadap paparan sinar ultraviolet, yakni dengan penambahan senyawa kimia berupa Tinopal. Menurut beberapa laporan, penambahan Tinopal tidak hanya mampu melindungi NPV dari paparan sinar ultraviolet, namun juga meningkatkan efektivitasnya dalam membunuh *S. litura* (Kunimi *et al.*, 2003 & Mukawa *et al.*, 2003).

Tinopal UNPA-GX merupakan senyawa kimia dari jenis *fluoresen* dengan nama dagang *Fluorescent Brightener 28* (Sigma, St. Louis, MO) dengan rumus kimia $C_{40}H_{44}N_{12}O_{10}S_2$ dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai keperluan industri sebagai “*whitening agent*” pada industri tekstil, kertas, bahan campuran detergen, dan sabun. Beberapa laporan menunjukkan bahwa penambahan senyawa kimia dari jenis *fluoresen* ini diketahui dapat: melindungi virus dari paparan sinar ultraviolet, meningkatkan kerentanan hama Lepidoptera terhadap infeksi virus, mengurangi waktu bertahan larva, dan memperpanjang *host range* dari virus (Hamm & Shapiro, 1992; Shapiro & Robertson, 1992; Shapiro & Dougherty, 1994; Shapiro & Vaughn, 1995).

BAHAN DAN METODE

Virus. Isolat virus yang digunakan berasal dari kadaver *S. litura* yang ditemukan pada pertanaman bawang merah di daerah Bantul, Yogyakarta. Isolat NPV sebelum digunakan dimurnikan dahulu dengan metode *differential centrifugation*. Konsentrasi NPV yang digunakan meliputi 2×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 , 2×10^6 , 2×10^7 , 2×10^8 , 2×10^9 PIB/ml.

Serangga. Larva *S. litura* yang digunakan berasal dari daerah Bantul, Yogyakarta dan dipelihara pada suhu 27°C dalam wadah plastik berukuran 20 cm×15 cm. Untuk perlakuan, instar yang digunakan adalah instar 3, 4, dan 5 sebanyak 30 ekor tiap perlakuan.

Bioassay. Untuk mengetahui pengaruh terhadap kematian maka dilakukan *bioassay* antara lain uji patogenisitas, uji kebalikan (resiprok), uji pengaruh residu. *Bioassay* menggunakan metode *droplet feeding* (Hughes & Wood, 1981; Hughes *et al.*, 1986) dan volume yang diberikan berbeda pada masing-masing instar yang diuji. Instar 3, volume yang diberikan 3 µl; instar 4 sebanyak 5 µl, dan instar 5 sebanyak 10 µl. Senyawa kimia Tinopal yang digunakan sebagai perlakuan meliputi dosis 1%; 0,5%; 0,25%; dan 0,125%, selain NPV dan Tinopal yang digunakan sebagai bahan perlakuan, ditambahkan pula pewarna dan sukrosa.

Analisis data. Data kematian yang diperoleh dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui LC50 (Finney, 1971; 1978), dan anova untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Tinopal terhadap Patogenisitas NPV pada S. litura

Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa penambahan Tinopal berpengaruh terhadap peningkatan persentase kematian larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5 dibandingkan dengan perlakuan yang hanya menggunakan NPV. Persentase kematian tertinggi larva *S. litura* instar 3 yang diperlakukan tanpa penambahan Tinopal sebesar 70% dicapai pada konsentrasi NPV 2×10^8 PIB/ml (Tabel 1), sedangkan pada perlakuan penambahan Tinopal 0,5% dan 1% persentase kematian tertinggi dicapai pada konsentrasi NPV 2×10^6 PIB/ml yang ditambahkan Tinopal 0,5%. Penambahan Tinopal 0,5% sudah cukup

Tabel 1. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 3 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	30	0,00 a
2×10^5	30	0,00 a
2×10^6	30	6,67 b
2×10^7	30	26,67 b
2×10^8	30	70,00 c

Keterangan:

Volume yang diberikan 3 µl/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

untuk mengendalikan instar 3 (Tabel 2). Hal ini diduga bahwa instar 3 lebih peka terhadap infeksi *S/NPV* dibanding instar 4 dan 5.

Penambahan Tinopal 1% pada beberapa konsentrasi NPV yang diaplikasikan pada instar 4 menunjukkan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan tanpa penambahan. Konsentrasi NPV 2×10^4 PIB/ml dengan penambahan Tinopal 1% sudah mampu mengendalikan 50% larva instar 4 (Tabel 3, 4, dan 5). Seiring dengan pertambahan umur larva *S. litura*, instar 5 sudah mengalami perkembangan ketahanan terhadap serangan mikroorganisme seperti NPV sehingga dimungkinkan kematian pada umur instar 5 menurun, namun pada kenyataannya

penambahan Tinopal 1% pada beberapa konsentrasi NPV yang diaplikasikan pada instar 5 menunjukkan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan tanpa penambahan. Konsentrasi NPV 2×10^3 PIM/ml dengan penambahan Tinopal 1% mampu mengendalikan 86,67% larva instar 5 (Tabel 6 dan 7). Hal ini diduga karena penambahan Tinopal 1% mampu mematahkan ketahanan larva instar 5 tersebut.

Berdasarkan data hasil, penambahan Tinopal 0,5% pada beberapa konsentrasi NPV yang diperlakukan pada instar 4, dan 5 dibandingkan dengan kontrol pada masing-masing instar, pengaruh Tinopal tidak tampak ditunjukkan dengan persentase kematian larva kurang dari 50%, namun pada

Tabel 2. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 3 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV dengan penambahan Tinopal 0,5 dan 1%

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas	
		0,5%	0,1%
Kontrol	30	0,00 a	0,00 a
2×10^3	30	13,33 b	36,67 b
2×10^4	30	40,00 b	30,00 b
2×10^5	30	26,67 ab	36,67 ab
2×10^6	30	60,00 b	73,33 b

Keterangan:

Volume yang diberikan 3 μ l/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

Tabel 3. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 4 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	30	0,00 a
2×10^6	30	0,00 abc
2×10^7	30	13,33 c
2×10^8	30	43,33 bc
2×10^9	30	56,67 c

Keterangan:

Volume yang diberikan 5 μ l/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

Tabel 4. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 4 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV dengan penambahan Tinopal 0,5%

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	30	0,00 a
2×10^3	30	6,67 ab
2×10^4	30	10,00 abc
2×10^5	30	13,33 abc
2×10^6	30	20,00 abc

Keterangan:

Volume yang diberikan 5 μ l/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

instar 3 dibandingkan dengan kontrol pengaruh Tinopal tampak jelas ditunjukkan dengan persentase kematian larva lebih dari 50% (Tabel 8).

Menurut Hughes *et al.* (1993), tidak semua baculovirus menyebabkan kematian, namun diduga pengaruhnya masih ada pada pertumbuhan, dan perkembangan larva. Boucias & Pendland (1998) menyatakan bahwa infeksi NPV dapat memperlambat perkembangan, dan mencegah molting dari larva ke pupa. Hal ini berkaitan dengan ditemukannya gen yang mengandung *egt* yang merupakan kode bagi *ecdysteroid UDP-glucosyl transferase* (*egt*; O'Reilley & Miller, 1998). Ekspresi dari gen *egt* menghambat proses molting, dan memelihara inang dalam stadia larva. Bagaimanapun, ekspresi gen *egt* mengubah *titer ecdysone* serta mengganggu molting larva dan pupa.

Penambahan Tinopal 1% pada S/NPV yang diaplikasikan pada instar 3, 4, dan 5 memacu aktivitas NPV sebesar 235, 25.117, dan $6,6 \times 10^6$ kali dibanding tanpa penambahan Tinopal (Tabel 8). Rasio aktivitas instar 5 lebih tinggi dibanding instar 3 dan 4, hal ini diduga bahwa aktivitas Tinopal bergantung pada umur larva. Menurut Monobrullah & Nagata (2001), penambahan *optical brightener* konsentrasi 1% pada S/NPV tidak hanya meningkat-

kan kematian larva *S. litura*, tetapi juga mempercepat kematian larva.

Nilai LC50 instar 4 dan 5 pada perlakuan NPV tanpa penambahan Tinopal menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan instar 3. Tidak adanya perbedaan yang nyata antara instar 4 dan 5 pada perlakuan NPV tanpa penambahan Tinopal menunjukkan bahwa konsentrasi NPV yang digunakan pada instar 4 masih efektif untuk digunakan pada instar 5. Penambahan Tinopal 0,5 dan 1% tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan Tinopal (Tabel 9).

Berdasarkan hasil uji kebalikan yang dilakukan terhadap larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5 menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata di antara dosis yang diuji namun dosis Tinopal 1% menunjukkan persentase kematian yang lebih tinggi dibanding dosis di bawahnya (Tabel 9).

Mekanisme Kerja Tinopal

Penambahan Tinopal 1% dalam suspensi S/NPV ternyata mampu meningkatkan persentase kematian larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5 dibanding tanpa penambahan Tinopal. Hal ini diduga bahwa Tinopal berpengaruh nyata dalam membantu infeksi S/NPV pada larva *S. litura* yakni bertindak sebagai

Tabel 5. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 4 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV dengan penambahan Tinopal 1%

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	30	0,00 a
2×10^4	30	50,00 abc
2×10^5	30	63,33 abc
2×10^6	30	76,67 abc
2×10^7	30	93,33 c

Keterangan:

Volume yang diberikan 5 μ l/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

Tabel 6. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 5 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	30	0,00 a
2×10^6	30	16,67 ab
2×10^7	30	16,67 ab
2×10^8	30	26,67 ab
2×10^9	30	50,00 b

Keterangan:

Volume yang diberikan 10 μ l/larva

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

Tabel 7. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 5 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV dengan penambahan Tinopal 0,5 dan 1%

Konsentrasi NPV (PIB/ml)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas	
		0,5%	0,1%
Kontrol	30	0,00 a	0,00 a
2×10 ³	30	20,00 b	86,67 b
2×10 ⁴	30	10,00 ab	73,33 ab
2×10 ⁵	30	13,33 b	90,00 b
2×10 ⁶	30	16,67 ab	93,33 ab

Keterangan:

Volume yang diberikan 10 µl/larva.

Rata-rata pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji DMRT.

Tabel 8. Tingkat kepekaan larva *Spodoptera litura* instar 3, 4, dan 5 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi NPV dengan dan atau tanpa penambahan Tinopal

Instar	Perlakuan Tinopal	LC50 (SK 95%) PIB/ml	Slope ±SE	c ²	Rasio Aktivitas
3	Tanpa	6,73×10 ⁷ (3,51×10 ⁷ -1,61×10 ⁸)	1,067 ± 0,195	0,312	-
	Dengan 1 %	2,86×10 ⁵ (8,65×10 ⁴ -1,34×10 ⁶)	0,407 ± 0,114	1,693	235 kali
	Dengan 0,5%	3,09×10 ⁵ (6,45×10 ⁴ -6,33×10 ⁶)	0,695 ± 0,201	0,979	217 kali
4	Tanpa	7,04×10 ⁸ (3,03×10 ⁸ -2,57×10 ⁹)	0,753 ± 0,148	2,624	-
	Dengan 1%	2,80×10 ⁴ (1,16×10 ³ -1,11×10 ⁵)	0,461 ± 0,121	0,664	25117 kali
	Dengan 0,5%	> 2×10 ⁶			
5	Tanpa	4,80×10 ⁹ (6,09×10 ⁸ -1,58×10 ¹³)	0,340 ± 0,114	1,504	-
	Dengan 1%	7,28×10 ² (5,33×10 ⁻²⁰ -1,07×10 ⁴)	0,466 ± 0,216	0,333	6,6×10 ⁶ kali
	Dengan 0,5%	< 2×10 ⁴			

Keterangan:

Rasio aktivitas = LC50 (tanpa Tinopal) / LC50 (dengan Tinopal); c² tabel = 9,49.

Tabel 9. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 3, 4, dan 5 yang diperlakukan dengan beberapa konsentrasi Tinopal

Perlakuan	Mortalitas (%)		
	Instar 3	Instar 4	Instar 5
NPV	10,00 a	6,67 ab	10,00 a
Aquades	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Tinopal 1%	0,00 a	0,00 a	3,33 a
1%	16,67 a	33,33 d	40,00 c
0,50%	6,67 a	23,33 cd	13,33 b
0,25%	6,67 a	13,33 bc	6,67 b
0,125%	10,00 a	3,33 ab	0,00 a

Keterangan:

Konsentrasi NPV yang digunakan 2×10⁴ PIB/ml (untuk instar 3) dan 2×10³ PIB/ml (untuk instar 4 dan 5)

Volume yang diberikan 3 µl/larva (instar 3), 5 µl/larva (instar 4), dan 10 µl/larva (instar 5).

fasilitator bagi masuknya virus ke dalam usus (*midgut*) larva dengan merusak membran peritropik. Mukawa *et al.* (2003) menyatakan bahwa penambahan Tinopal 1% ke dalam *Myse*NPV mampu meningkatkan aktivitas virus sebesar 3,933 kali. Berdasarkan bukti yang ditemukan, Mukawa *et al.* (2003) menduga bahwa Tinopal terlibat dalam perubahan permeabilitas membran peritropik yakni

dengan cara mengikat kitin dengan konfigurasi beta, sehingga menghambat terjadinya proses kristalisasi kitin, dan memudahkan *S/NPV* untuk masuk ke usus, dan menginfeksi larva. Kerusakan membran peritropik lebih banyak karena masuknya sejumlah besar virion ke dalam ektoperitropik, menyerang sel-sel yang peka, dan memperbanyak diri (Monobrullah & Nagata, 2001).

Tabel 10. Mortalitas larva *Spodoptera litura* instar 5 yang diperlakukan dengan beberapa waktu pemberian Tinopal

Perlakuan (menit)	Jumlah larva uji (ekor)	Mortalitas (%)
Kontrol	15	0,00
0	15	0,00
30	15	20,00
60	15	13,33
120	15	60,00
360	15	66,67

Keterangan:

Konsentrasi NPV yang diberikan 2×10^4 PIB/ml; volume yang diberikan 10 μ l/larva.

Pengaruh Tinopal pada larva *S. litura* tidak hanya ketika diaplikasikan bersamaan dengan NPV, namun juga pengaruhnya masih tampak pada residu yang tertinggal di dalam usus larva yakni apabila larva diaplikasikan NPV pada waktu yang berbeda, maka masih dapat menimbulkan kematian. Pada 360 menit atau 6 jam setelah pemberian Tinopal, NPV yang diaplikasikan pada larva tersebut masih menyebabkan kematian hingga 66,67% (Tabel 10).

KESIMPULAN

1. Tinopal meningkatkan daya insektisidal NPV terhadap larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5.
2. Dosis Tinopal 1% merupakan dosis yang baik untuk meningkatkan kematian larva *S. litura* instar 3, 4, dan 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M., A.H. Sayyed, N. Crickmore, & M. A. Saleem. 2007. Genetic and Mechanism of Resistance to Deltamethrin in Field Population of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science* 63: 1002–1010.
- Anonim. 1992. Dominasi dan Tingkat Serangan Hama Kedelai, p. 29–35. In Marwoto, N. Saleh, Sunardi, A. Winarto (eds.), *Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai*. Balai Penelitian Tanaman Pangan, Malang.
- Bedjo. 2005. Potensi, Peluang, dan Tantangan Pemanfaatan *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus (SINPV) untuk Pengendalian *Spodoptera litura* Fabricius pada Tanaman Kedelai. <http://www.puslittan.bogor.net/admin/downloads/bedjo.pdf>, diakses 18/10/06.
- Boucias, D.G. & J.C. Pendland. 1998. *Principles of Insect Pathology*. Kluwer Academic Publisher, Netherlands. 537 p.
- CABI. 2005. *Spodoptera litura*. Crop Protection Compendium, Wallingford, UK. CAB International.
- Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge. 333 p.
- Finney, D.J. 1978. *Statistical Methods in Biological Assay*. Charles Griffin & Co., London. 508 p.
- Hamm, J.J. & M. Shapiro. 1992. Infectivity of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Nuclear Polyhedrosis Virus by a Fluorescent Brightener. *Journal of Economic Entomology* 85: 2149–2152.
- Hughes, P.R. & H.A. Wood. 1981. A Synchronous Peroral Technique for the Bioassay of Insect Viruses. *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 154–159.
- Hughes, P.R., N.A.M. van Beek, & H.A. Wood. 1986. A Modified Droplet Feeding Method for Rapid Assay of *Bacillus thuringiensis* and Baculovirus in Noctuid Larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 48: 187–192.
- Hughes, D.S., R.D. Possee, & L.A. King. 1993. Activation and Detection of a Latent Baculovirus Resembling *Mamestra brassicae* Nuclear Polyhedrosis Virus. *Virology* 131: 561–565.
- Hunter-Fujita, F.R., P.F. Entwistle, H.F. Evans, & N.E. Crook (eds.) 1998. *Insect Viruses and Pest Management*. Wiley, New York. 620 p.
- Kranthi, K.R., D.R. Jadhav, R.R. Wanjari, S.S. Ali, & D. Russell. 2001. Carbamate and Organophosphate Resistance in Cotton Pest in India, 1995 to 1999. *Bulletin of Entomological Research* 91: 37–46.
- Kunimi, Y., S. Okuno, J. Takatsuka, M. Nakai, S. Ototake, & M. Okio. 2003. Viral-Enhancing Activity of Various Stilbene-derived Brighteners for a *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology* 37: 1461–52.
- Monobrullah, M.D. 2003. Optical Brighteners-Pathogenicity Enhancers of Entomopathogenic Viruses. *Current Science* 84: 640–645.
- Monobrullah, M.D. & M. Nagata. 2001. Optical Brighteners as Ultraviolet Protectants and

as Enhancers in Pathogenicity of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lep., Noctuidae) Nucleopolyhedrovirus. *Journal of Applied Entomology* 125: 377–382.

Moscardi, F. 1999. Assessment of the Application of Baculoviruses for Control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 44: 257–289.

Mukawa, S., M. Nakai, S. Okuno, J. Takatsuka, & Y. Kunimi. 2003. Nuclearpolyhedrovirus Enhancement by a Fluorescent Brightener in *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology* 38: 87–96.

O'Reilley, D.R. & L.K. Miller. 1998. A Baculovirus Bloks Insect Molting by Producing Ecdysteroid UDP-Glukosyl Transferase. *Science* 245: 1110–1112.

Pant, U., A.B. Sudeep, S.S. Athawale, & V.C. Vipat. 2002. Baculovirus Studies in New, Indigenous

Lepidopteran Cell Lines. *Indian Journal of Experimental Biology* 40: 63–68.

Shapiro, M. & E.M. Dougherty. 1994. Enhancement in Activity of Homologous and Heterologous Viruses against the Gypsy Moth (Lepidoptera: Limantriidae) by an Optical Brightener. *Journal of Economic Entomology* 87: 361–365.

Shapiro, M. & J.L. Robertson. 1992. Enhancement of Gypsy Moth (Lepidoptera: Limantriidae) Baculovirus Activity by Optical Brightener. *Journal of Economic Entomology* 85: 1120–1124.

Shapiro, M. & J.L. Vaughn. 1995. Enhancement in Activity of Homologous and Heterologous Baculovirus Infectious to Cotton Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) by an Optical Brightener. *Journal of Economic Entomology* 88: 265–269.