

PATOGENICIDADE DE *Bacillus thuringiensis*
VAR. *kurstaki* (H:3a-3b) PARA O CURUQUERÉ DO ALGODÃO,
Alabama argillacea (HÜBNER, 1818)
(LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)

Mohamed E.M. Habib¹
Carlos F.S. de Andrade¹

INTRODUÇÃO

O uso de agentes biológicos para o combate de insetos, tem recebido uma grande consideração nas estratégias de Manejo Integrado de pragas. Relativamente são poucos os patógenos de insetos explorados como agentes de controle, embora o número de espécies isoladas e identificadas seja enorme, indicando assim a falta de conhecimentos profundos sobre a maioria dessas espécies.

Bacillus thuringiensis, gram positivo, aeróbio e formador de esporo, tem recebido a maior atenção nas investigações em relação aos demais entomopatógenos. As descobertas de diferentes variedades dessa bactéria cristalífera revela a possibilidade de ocorrência de evolução e adaptação desse patógeno dentro de uma grande gama de hospedeiros acompanhadas por evidente patogenicidade seletiva (ANGUS, 1956; STEINHAUS, 1960; VANKOVA, 1964;

¹ Universidade Estadual de Campinas, SP.

GRIGOROVA, 1964; SHAIKH & MORRISON, 1966). Os insetos conhecidos como susceptíveis a este bacilo até 1968 eram cerca de 150 espécies (ANGUS, 1968). Após 6 anos já se conhecia 184 espécies (FAUST, 1974). Portanto, acredita-se que o número atual de espécies susceptíveis às suas diferentes variedades seja bem maior. Surgiram assim, vários trabalhos sobre a patogenicidade de diferentes variedades e sorotipos desse bacilo e sobre os níveis de susceptibilidade em diferentes espécies das regiões temperadas (MORRIS, 1963, 1969a, 1969b; IGNOFFO et alii, 1964; VANKOVA, 1964; ANGUS, 1967; HABIB, 1968, 1982; AFIFY et alii, 1970a; SALAMA et alii, 1981). Porém, poucos são os estudos com entomofauna neotropical e subtropical.

A importância econômica de *Alabama argillacea* como praga de algodão foi relatada ultimamente por HABIB (1976, 1977 e 1978) e mais recentemente por KASTEN (1980). FIGUEIREDO et alii (1960), IGNOFFO et alii (1964) e HABIB & FAVARO (1981) através de estudos preliminares revelaram a alta susceptibilidade de larvas desse noctuídeo a formulações comerciais de produtos à base de *B. thuringiensis*.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a susceptibilidade de larvas de *A. argillacea* ao *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e verificar os efeitos histopatológicos e sintomas decorrentes de infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

Três produtos comerciais à base de *B.t.* var. *kurstaki* foram utilizados nestes estudos, todos com virulência de 16.000 UI por miligrama (Dipel, Thuricide e Bactospeine) além do Isolado Zoocamp-78, também à base do mesmo sorotipo (H:3a-3b). A virulência desse isolado foi determinada como 39.000 UI/mg em larvas de *Trichoplusia ni*.

A criação de estoque do curuquerê foi mantida de acordo com HABIB (1976, 1977). Larvas do 5º estágio foram usadas nos bio-ensaios de susceptibilidade. Tais larvas recebiam dosagens equivalentes a 300 g, 500 g, e 1000 g/ha de cada um dos diferentes preparados. Para cada dosagem 60 larvas eram usadas e distribuídas em 6 recipientes (10/cada). Cada grupo de 10 indivíduos recebia 8,4 cm² de folha de algodão contendo a quantidade calculada do patógeno equivalente a cada dosagem. A bactéria foi aplicada na área foliar em forma de suspensão em água destilada à base de 10 µl por 8,4 cm² de folha, e distribuída com o auxílio de alça de platina. Após a secagem natural, a folha tratada era colocada no vidro junto com as 10 larvas. Consumido totalmente o alimento, quantidades suficientes de folhas não tratadas eram oferecidas. Antes de cada tratamento, as larvas foram pesadas para possibilitar os cálculos de dose por unidade de peso do inseto. Para o controle (testemunha), 60 larvas do 5º estágio foram usadas.

Para os estudos histopatológicos, em larvas do 5º estágio, técnicas usuais de histologia em parafina foram aplicadas. Os cortes foram corados com hematoxilina e diferenciados por eosina. A espessura dos cortes foi de 7 µm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomatologia externa

Embora os sintomas da infecção nas larvas de *A. argillacea* enquadrem-se no contexto geral descrito para infecções causadas por *B. thuringiensis*, a cronologia dos diferentes sintomas variou de acordo com as dosagens aplicadas.

A perda de apetite e conseqüente parada alimentar foram os sintomas iniciais da bacteriose. Tais sintomas foram observados a partir de 20 a 60 minutos após in-

gestão, devido a distúrbios fisiológicos causados pela ação tóxica da ϵ - endotoxina nas células epiteliais do intestino médio.

A partir de aproximadamente 6 horas, as larvas sofriam regurgitação e diarreia, indicando efeitos e alterações mais acentuados com reflexos no estomodeo e proctodeo.

O tegumento das larvas infectadas começou a perder o seu brilho típico, adquirindo aspecto opaco a partir de 12 horas, indicando possível ocorrência de alterações a nível dos tecidos e hemolinfa. Posteriormente, as larvas perdiam a agilidade respondendo lentamente a estímulos externos. Esta fase foi acompanhada por alterações mais acentuadas na coloração do tegumento, que adquiria tonalidades entre creme e marrom. Na sequência, o tegumento escurecia cada vez mais a partir de manchas pretas na região mediana do corpo (figura 1), expandindo-se pelo resto, dando aspecto de larvas carbonizadas.

O acúmulo de alimento mal digerido no intestino junto com a parada alimentar indicam a ocorrência de típica paralisia intestinal. Entretanto, a resposta aos estímulos, embora reduzida, revela a não ocorrência de paralisia geral até a morte.

As larvas infectadas morriam a partir de 24 horas e os sintomas pós-mortais desencadeavam-se rapidamente. Com frequência, a morte ocorria no estágio de pré-pupa, também com aspecto carbonizado (figura 2). Tal aspecto por ser bem típico, facilitaria as avaliações de eficiência no campo, após aplicações de produtos à base desse bacilo.

Histopatologia

As larvas do 5º estágio de *A. argillacea* infectadas pela dose equivalente a 8.000 UI/ha sofreram as seguintes alterações histológicas:

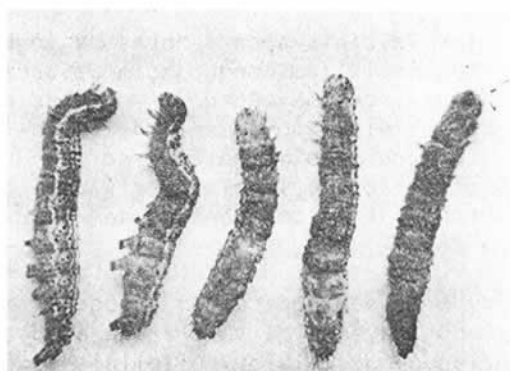


FIGURA 1 - Sintomas externos prē-mortais em larvas de *A. argillacea* infectadas por *B. thuringiensis*.

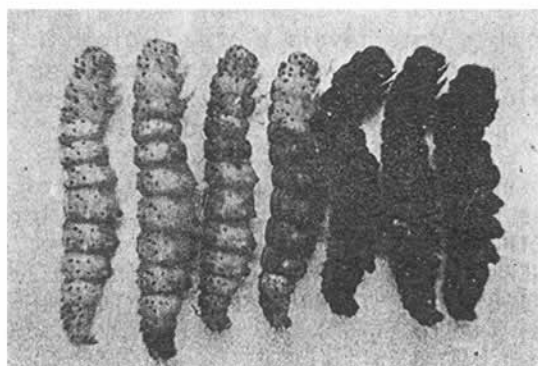


FIGURA 2 - Sintomas prē- e pōs-mortais em prē-pupas de *A. argillacea* infectadas por *B. thuringiensis*.

Os efeitos iniciais após 6 horas da ingestão, no intestino médio, incluíram condensação de cromatina nas células epiteliais, deslocamento dos núcleos para o extremo basal das células e o aumento de vacuolização citoplasmática. Em seguida o mesentério sofreu relaxamento dos músculos circulares e longitudinais além de deslocamento da membrana basal com abandono das células epiteliais (figura 3A).

Após 12 horas da ingestão do patógeno, a musculatura intestinal mostrava-se mais relaxada ainda, juntamente com dissociação das células epiteliais e afastamento maior da membrana basal (figura 3B).

Sinais de autólise nas células epiteliais, início de destruição da membrana peritrófica, indicada pelo alívio em contato direto com o epitélio, e degeneração dos núcleos foram observados 18 horas após a infecção (figura 3C).

Após 24 horas, as paredes das células epiteliais não eram mais detectáveis e a destruição do epitélio era total, pois encontravam-se apenas restos de tecidos vegetais não digeridos misturados com vestígios celulares espalhados na luz intestinal (figura 3D).

Observações de alterações semelhantes foram feitas em outras espécies de insetos, tais como larvas de *Bombyx mori* (HEIMPEL & ANGUS, 1959), *Galleria mellonella* (HO-OPINGARNER & MATERU, 1964), *Ostrinia nubilalis* (SUTTER & RAUN, 1967), *T. ni* (BROERSMA & BUXTON, 1967) e *Anagasta kuehniella* (HABIB, 1968).

Os efeitos da bacteriose ocorreram de uma forma mais acentuada nas glândulas labiais, apenas a partir de 12 horas após a infecção. Condensação de cromatina nos núcleos foi o primeiro sinal, junto com início de degeneração da membrana peritoneal e separação entre algumas células do epitélio (figura 4A). Em larvas fixadas 24 horas após a infecção, total degeneração da membrana peritoneal, destruição da região basal das células e desintegração das paredes celulares eram os sintomas observados na maioria do material (figura 4B).



FIGURA 3 - Alterações histológicas no intestino médio de larvas de *A. argillacea* infectadas por *B. thuringiensis*. A-6 horas após a infecção; B-12 horas após a infecção; C-18 horas após a infecção; D-24 horas após a infecção.

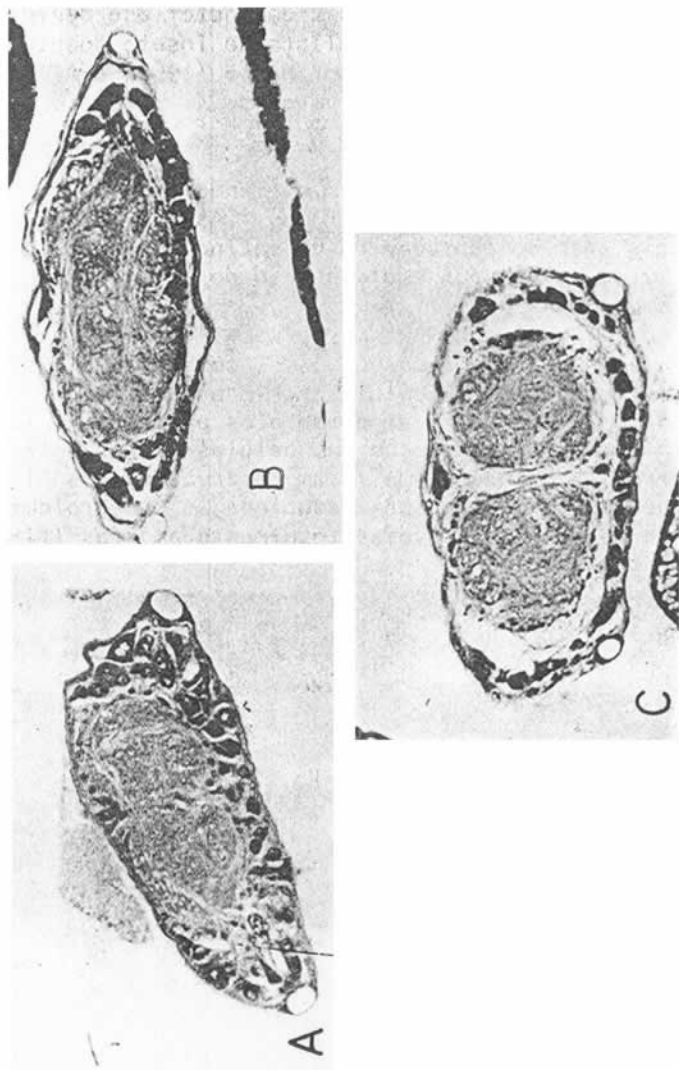


FIGURA 6 - Alterações em gânglios nervosos de larvas de *A. argillacea* infectadas por *B. thuringiensis*. A-12 horas após a infecção; B-18 horas após a infecção; C-24 horas após a infecção.

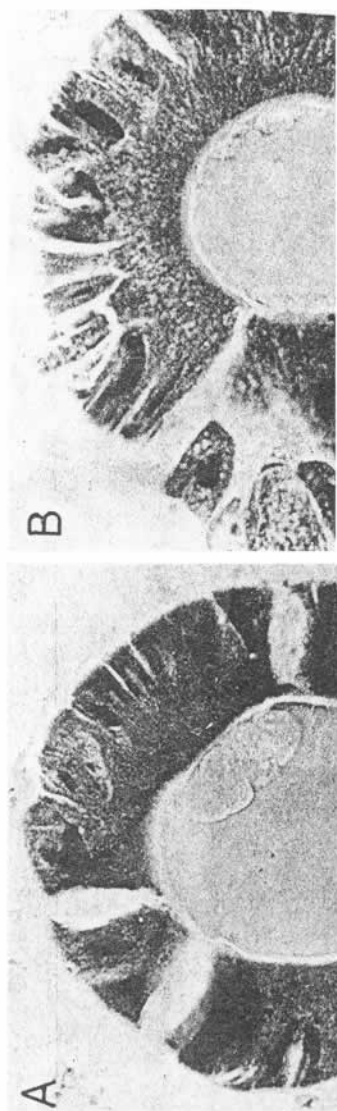


FIGURA 4 - Alterações histológicas em glândulas labiais de larvas de *A. argilla cea* causadas por *B. thuringiensis*. A - 12 horas após a infecção; B-24 horas após a infecção.

As alterações observadas nas glândulas devem ter ocorrido como consequência indireta da bacteriose devido às mudanças físico-químicas da hemolinfa no inseto doente. Dados semelhantes foram obtidos por HABIB (1968) e AFIFY **et alii** (1970b) em glândulas salivares de *A. kuhniella* infectadas pela mesma bactéria.

Os túbulos de Malpighi foram os menos afetados pela doença em relação aos demais órgãos. As alterações mais visíveis eram condensação de cromatina nos núcleos com vacuolização acentuada e diminuição do volume celular (figura 5).

Em relação aos gânglios nervosos, condensação de cromatina e diminuição das células nervosas, tanto imaginiais como larvais, ocorreram durante as primeiras 12 horas da infecção. Degeneração das células nervosas larvais e destruição do neurolema foram observadas após 18 horas. A neuropila mostrou-se dissociada, o neurolema degenerado e as células nervosas totalmente amorfas (figuras 6A, B e C).



FIGURA 5 - Alterações histológicas em túbulos de Malpighi de larvas de *A. argillacea* infectadas por *B. thuringiensis* (24 horas após).

Além das alterações detectadas na musculatura perimesentérica, os músculos esqueléticos também foram afetados, embora indiretamente, pela bactéria. Dissociação das fibrilas indicando relaxamento muscular, com degeneração do sarcôlema, foram as alterações mais acentuadas (figuras 7A e B).

O tecido adiposo, seja subcutâneo ou visceral, sofreu redução drástica e praticamente não existia após 18 horas da infecção. Esse sintoma ocorre normalmente em insetos que passam por deficiência alimentar ou jejum forçado. Condensação de cromatina e degeneração da membrana conectiva e paredes celulares compuseram os sintomas finais no tecido adiposo remanescente, antes da morte.

Susceptibilidade e virulência

Foram estabelecidas 3 dosagens, equivalentes a 1000 g, 500 g, e 300 g/ha, de cada um dos produtos (Dipel, Thuricide e Bactospeine), além do isolado Zoocamp-78. Baseando-se nos produtos comerciais (com virulência de 16.000 UI/mg) e no consumo de 0,84 cm² de folha trata da por larva, tais dosagens correspondem a 134, 67 e 40 UI por larva respectivamente. Como a larva do 5º estágio de *A. argillacea* pesou em média 0,124 g, as mesmas dosagens correspondem a 1081, 541 e 323 UI/g do inseto tratado. Os bioensaios foram baseados em critérios de tempos letais para evitar possíveis distorções em consequência da heterogeneidade genética (2ª geração no laboratório). Uma progressão geométrica foi estabelecida para os tempos de avaliação.

O quadro 1 mostra as respostas de larvas do 5º estágio de *A. argillacea* às dosagens mencionadas. O isolado do Zoocamp-78, para a primeira dose, teve o efeito patogênico mais rápido, quando comparado com os 3 produtos comerciais, revelando um tempo letal mediano (TL₅₀) de 29,57 horas. No segundo lugar, encontra-se o produto belga Bactospeine, atingindo um TL₅₀ de 31,90 horas. Os dois

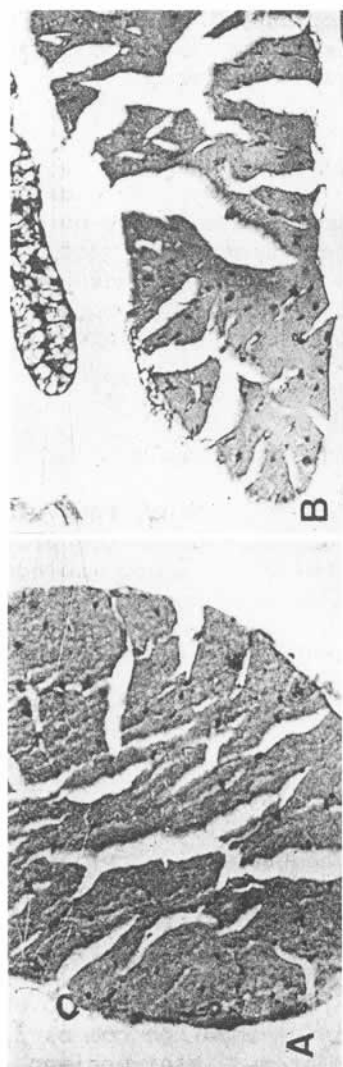


FIGURA 7 - Alterações histológicas em músculos de larvas de *A. argillacea* infecta das por *B. thuringiensis*. A - 18 horas após a infecção; B - 24 horas após a infecção.

QUADRO 1 - Tempos letais medianos em horas e intervalos de confiança para larvas do 5º estágio de *A. argillacea* infectadas por 4 produtos à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

Produto	Dosagem equivalente					
	1000 g/ha	500 g/ha	300 g/ha			
	TL ₅₀	Intervalo	TL ₅₀	Intervalo		
Zoocamp-78	29,57	27,64-31,83	31,71	29,55-33,76	37,00	34,23-39,97
Thuricide	33,27	31,87-34,69	34,76	32,46-37,98	40,19	37,35-43,17
Bactospeine	31,90	29,19-34,91	41,09	38,94-43,14	48,61	45,39-51,73
Dipel	33,52	31,42-35,78	39,29	36,39-42,25	43,84	41,17-46,49

produtos norte-americanos Thuricide e Dipel, ocuparam o último lugar sem diferença significativa, com TL_{50} de 33,27 e 33,52 horas respectivamente.

O isolado Zoocamp-78 usado no presente trabalho, foi fermentado e formulado como amostra por processo industrial nos laboratórios Abbott (EUA) sendo possível, portanto, uma comparação entre seu potencial e o do Dipel, produzido pelo mesmo laboratório. A virulência desse produto é de 16.000 UI/mg contra larvas de *T. ni*. Tal produto atingiu um TL_{50} de 33,52 horas em larvas de *A. argillacea*, enquanto que Zoocamp-78 para a mesma dose teve um TL_{50} de 29,57 horas, o que corresponderia por conseguinte a 18.136 UI/mg. Isto é, o isolado Zoocamp foi superior ao Dipel na razão de 1,1335, adaptando-se as fórmulas de MECHALAS & ANDERSON (1964) e MECHALAS & DUM (1964) para tempos letais. A diferença na eficiência desses dois preparados deve ser associada às características genéticas das cepas que os originaram e seus hospedeiros naturais diferentes, conquanto pertencem à mesma variedade (*kurstaki*) ou sorotipo (H:3a-3b). O bacilo do Dipel foi isolado originalmente nos EUA de larvas de *Pectinophora gossypiella*, enquanto que Zoocamp-78 foi no Brasil de larvas de *A. kurmiella*.

Utilizando a dosagem equivalente a 500 g/ha, para comparar as respostas de larvas de *A. argillacea* aos mesmos preparados (os 3 comerciais e o isolado experimental), mais uma vez o Zoocamp se destacou com o TL_{50} de 31,71 horas. O Thuricide ocupou o 2º lugar para essa dosagem, seguido por Dipel e finalmente por Bactospeine. Seguindo o mesmo critério de comparação, anteriormente mencionado, o Zoocamp-78 foi superior ao Dipel com a razão de 1,239, ou seja, com virulência equivalente a 19.825 UI/mg.

A dosagem equivalente a 300 g/ha resultou em tempos letais medianos, obviamente, maiores do que os das dosagens anteriores. Também com essa dosagem, o Zoocamp-78 continuou ocupando o 1º lugar em relação aos demais produtos, revelando um TL_{50} de 37 horas. Mantendo a mesma ordem observada para a dosagem de 500 g/ha, o Thuri-

cide continuou no 2º lugar seguido por Dipel e Bactospeine. A superioridade do Zoocamp em relação ao Dipel foi na razão de 1,1848 com essa dosagem, ou seja, com virulência de 18.959 UI/mg.

Os resultados dos bio-ensaios com o isolado Zoocamp indicam claramente que as respostas de insetos a um patógeno variam de acordo com a espécie do inseto, pois este isolado demonstrou nível de virulência de 39.000 UI/mg quando foi avaliado utilizando larvas de *T. ni* (dados de Abbott Laboratories, EUA). Isto significa que o isolado superou o Dipel (16.000 UI/mg) à razão de 2,4375. Por outro lado, com larvas de *A. argillacea*, no presente trabalho, a razão de superioridade variou entre 1,1335 e 1,239. BURGERJON & DULMAGE (1977) obtiveram resultados semelhantes numa comparação entre os mesmos produtos comerciais usados no presente trabalho, porém, com larvas de *T. ni* e *A. kuhniella* e confirmam a variação na potência do patógeno em função da espécie do inseto teste.

Para finalidades de aplicação no campo, a dosagem de 500 g/ha pode ser recomendada para o controle do curuquerê em campos de algodão. Por outro lado, a dosagem de 1000 g/ha seria desnecessária ou até anti-econômica, enquanto que a de 300 g seria insuficiente, apesar do seu efeito satisfatório sob condições de laboratório.

Em termos de adequação à fauna regional, acreditamos que o isolado Zoocamp-78 seria ideal para aplicações na lavoura brasileira. Este isolado, obtido a partir de insetos doentes na região de Campinas, SP, revelou-se mais eficiente do que os produtos estrangeiros avaliados. Tal dado indica uma necessidade maior de levantar e avaliar os possíveis patógenos que possam ocorrer nas diferentes regiões do Brasil e posteriormente estudar a possibilidade do seu uso, em programas de controle de insetos prejudiciais.

RESUMO

Neste estudo, além da sintomatologia externa e histopatologia em larvas de *Alabama argillacea* infectadas por *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, estudos de susceptibilidade foram desenvolvidos para comparar entre quatro preparados desse patógeno.

Os tecidos internos examinados nos estudos histopatológicos foram: intestino médio, glândulas labiais, túbulos de Malpighi, tecido adiposo, gânglios nervosos e musculatura. Rápida descrição das alterações histológicas foi dada.

Os estudos de susceptibilidade revelaram a alta virulência do isolado Zoocamp-78, quando comparado com 3 produtos comerciais (Dipel, Thuricide, Bactospeine) à base do mesmo patógeno. Algumas recomendações de uso de produtos dessa categoria foram sugeridas em função dos dados obtidos.

SUMMARY

PATHOGENICITY OF *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* TO THE COTTON LEAFWORM, *Alabama argillacea* (HÜBNER, 1818) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)

In the present work, symptomatology, histopathology and susceptibility studies were realized in larvae of *Alabama argillacea* infected with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

The histological alterations were described in mid-gut, labial glands, Malpighian tubules, fat tissue, nervous ganglia and musculature.

The susceptibility tests revealed higher virulence of the isolate Zoocamp-78 when compared with three com-

mercial preparations (Dipel, Thuricide and Bactospeine). Some recommendations for field application were given on the light of the present data.

LITERATURA CITADA

- AFIFY, A.M., M.M. ALTAHTAWY, S. EL-SAWAF, M.M. HABIB & S.M. HAMMAD, 1970a. Histological effects of Bior-trol BTB, Process 183, on the third Instar larvae of *Anagasta kuhniella* Zeller. *Z. ang. Entomol.* 65: 38-48.
- AFIFY, A.M., S. EL-SAWAF, S.M. HAMMAD & M.E.M. HABIB, 1970b. Increase of tolerance to bacterial insecticides with larval development of *Anagasta kuhniella* Z., in relation to its microbial control. *Z. ang. Entomol.* 65: 14-19.
- ANGUS, T.A., 1956. Association of toxicity with protein-crystalline inclusions of *Bacillus sotto* Ishiwata. *Can. J. Microbiol.* 2: 122-131.
- ANGUS, T.A., 1967. Comparative toxicity of the parasporal inclusions of three entomogenous bacteria. *J. Invertebr. Pathol.* 9: 256-260.
- ANGUS, T.A., 1968. The use of *Bacillus thuringiensis* as a microbial insecticide. *World Rev. Pest Control* 7: 11-26.
- BROERSMA, D.B. & J.A. BUXTON, 1967. A comparative study of the action of six crystalliferous bacteria on the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Invertebr. Pathol.* 9: 58-69.
- BURGERJON, A. & H. DULMAGE, 1977. Industrial and International standardization of microbial pesticides. I. *Bacillus thuringiensis*. *Entomophaga* 22: 121-129.

- FAUST, R.M., 1974. Bacterial diseases. Em "Insect diseases" (Cantwell, G.E., ed.), pp. 87 - 183, vol. 1, Marcel Dekker, New York.
- FIGUEIREDO, M.B., J.M. COUTINHO & A. ORLANDO, 1960. Novas perspectivas para o controle biológico de algumas pragas com *Bacillus thuringiensis*. *Arq. Inst. Biol.* 27: 77-85.
- GRIGOROVA, R., 1964. Deux souches de *Bacillus thuringiensis* B. isolées de chenilles du *Bombyx dispar* *Lymantria dispar*. *Entomophaga Mém.* 2: 179 - 191.
- HABIB, M.E.M., 1968. **Histopathological studies on the effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner, on the Mediterranean flour moth, *Anagasta kuhniella* Zeller**, tese de Mestrado, Fac. Agric. Univ. Alexandria, Egito, 196 pp.
- HABIB, M.E.M., 1976. **Estudos biológicos e anatômicos sobre *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae)**, tese de doutoramento, UNICAMP, 117 pp.
- HABIB, M.E.M., 1977. Contribution to the biology of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepid., Noctuidae). *Z. ang. Entomol.* 84: 412 - 418.
- HABIB, M.E.M., 1978. Anatomy and histology of the mature larva of the american cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepid., Noctuidae). *Anais da SEB* 7: 7-14.
- HABIB, M.E.M., 1982. **Patogenicidade de duas variedades de *Bacillus thuringiensis* Berliner para larvas de Lepidoptera e Díptera**, tese de livre docência, UNICAMP, 163 pp.
- HABIB, M.E.M. & A. FAVARO JR., 1981. Estudos de susceptibilidade de *Alabama argillacea*, o curuquerê do algodão, ao *Bacillus thuringiensis*. VII Congr. Bras. Ent., Fortaleza, CE, Resumos, p. 142.

- HEIMPEL, A.M. & T.A. ANGUS, 1959. The site of action of crystalliferous bacteria in Lepidoptera larvae. **J. Insect Pathol.** 1: 152-170.
- HOOPINGARNER, R. & M.E.M. MATERU, 1964. The toxicity and histopathology of *Bacillus thuringiensis* in *Galleria mellonella*. **J. Insect Pathol.** 6: 26-30.
- IGNOFFO, C.M., R.L. MCGARR & D.F. MARTIN, 1964. Control of *Alabama argillacea* (Hübner) with *Bacillus thuringiensis*. **J. Insect Pathol.** 6: 411-416.
- KASTEN, P.T., 1980. **Biologia de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae) em diferentes temperaturas, no cultivar de algodoeiro IAC - 17, ESALQ, tese de mestrado, 56 pp.**
- MECHALAS, B.J. & N.B. ANDERSON, 1964. Bioassay of *Bacillus thuringiensis*. Berliner-Based microbial insecticides. II. Standardization. **J. Insect Pathol.** 6: 218-224.
- MÊCHALAS, B.J. & P.H. DUNN, 1964. Bioassay of *Bacillus thuringiensis* Berliner-Based microbial insecticides. I. Bioassay procedure. **J. Insect Pathol.** 6: 214-217.
- MORRIS, O.N., 1963. Pathogenicity of three commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* Berliner for some forest insects. **J. Insect Pathol.** 5: 361-367.
- MORRIS, O.N., 1969a. Susceptibility of several forest insects of British Columbia to commercially produced *Bacillus thuringiensis*. I. Studies on the physiological properties of some commercial products. **J. Invertebr. Pathol.** 13: 134 - 146.
- MORRIS, O.N., 1969b. Susceptibility of several forest insects of British Columbia to commercially produced *Bacillus thuringiensis*. II. Laboratory and field pathogenicity tests. **J. Invertebr. Pathol.** 13: 285-295.

- SALAMA, H.S., M.S. FODA & A.M. EL-SHARABY, 1981. Potency of spore- -endotoxin complexes of *Bacillus thuringiensis* against some cotton pests. *Z. ang. Entomol.* 91: 388 - 398.
- SHAIKH, M.U. & F.O. MORRISON, 1966. Susceptibility of nine insect species to infection by *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 8: 347 - 350.
- STEINHAUS, E.A., 1960. The duration of viability and in infectivity of certain insect pathogens. *J. Insect. Pathol.* 2: 225 - 229.
- SUTTER, G.R. & E.S. RAUN, 1967. Histopathology of European corn borer larvae treated with *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 9: 90 - 103.
- VANKOVA, J., 1964. *Bacillus thuringiensis*. *P. ang. Entomol.* 2: 271 291.