

BIOLOGIA Y COMPORTAMIENTO DE *Polistes erythrocephalus* Ltr.
(Hymenoptera: Vespidae), PREDADOR DEL "GUSANO CACHON"
DE LA YUCA *Erinnyis ello* L. (Lepidoptera: Spingidae)

Carlos A. Martin P.*
Anthony C. Bellotti**

COMPENDIO

El ciclo de vida de *Polistes erythrocephalus* (latitud 3° 30' N, longitud 76° 22' 21" W; 965 m.s.n.m.; 23.7°) tiene una duración de 110 días, oscilando entre 91 y 131 días. La capacidad de predación en jaulas de malla (2.5 x 2.5 x 2.5 m) depende del número de larvas. El consumo diario máximo fue de 1.3, el mínimo de 0.08 y el promedio de 0.5 larvas de *E. ello* (II y III instar). No se encontraron machos en nidos menores de 50 celdas y en mayores de 50 celdas el número de machos incrementa con el crecimiento del nido llegando a ser casi igual al de las hembras. De 412 nidos el 17 o/o estaban parasitados por *Oxysarcodexia* sp., (Diptera : Sarcophagidae) siendo el enemigo natural más frecuente de larvas y pupas de *Polistes*. Este insecto es a su vez parasitado por los himenopteros *Pachyneuron* sp. (Pteromalidae) y *Brachymeria conica* Ashmead (Chalcididae).

ABSTRACT

The duration average of the cycle life of *P. erythrocephalus* (latitude 3°30'N, longitude 76°22'21"W; 965 altitude; 23.7°C) was 110 days and ranged between 91 and 131 days. Predatory capacity depends on the number of larva. The maximum number of larva consumed by one *Polistes* larva per day was 1.3 and the minimum was 0.08 with a mean of 0.5 hornworm larva (II y III instar). Males were not found in nests with less than 50 cells. In nests with more than 50 cells the number of males increase with increasing number of cells until they equal the number of female. Of the 412 nests examined, 17 o/o were attached by *Oxysarcodexia* sp (Diptera: sarcophagidae). This insect is in turn parasitized by several hymenoptera such as *Pachyneuron* sp (Pteromalidae) y *Brachymeria conica* (Chalcididae).

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A.A. 6713. Cali, Colombia.

1. INTRODUCCION

Entre más de doscientas especies de artrópodos que atacan al cultivo de la yuca, **Manihot esculenta** Crantz (Reyes, 16), figura en primer lugar de importancia económica “el gusano cachón” **Erinnyis ello** L. (Bellotti, Schoonhoven y Peña, 2; Bellotti y Schoonhoven, 3; Gallego, 7; Pinto, 13). La longitud del período vegetativo y la rápida capacidad de recuperación de la yuca, y la amplia gama de enemigos naturales del “gusano cachón,” se han determinado treinta y uno atacándolo en sus diferentes estados, son características propicias para el desarrollo de un plan de control integrado (Bellotti, Reyes y Arias, 4).

Entre los insectos predadores se cuentan las avispas del género **Polistes** spp (Gallego, 1), representado por más de ciento cincuenta especies distribuidas en las zonas tropical y subtropical (Richards, 17; West Eberhard, 19; Yoskikawa, 20). La especie más abundante en el Valle del Cauca es **Polistes erythrocephalus**, presente en otras regiones de Colombia, en Panamá, Costa Rica, Nicaragua, y sur del Brasil (Bequaert, 5; West Eberhard, 19). Su acción predatoria sobre larvas se ha reconocido desde el comienzo de la historia de la Entomología colombiana, considerándose las responsables del control de los gusanos comedores de las hojas del tabaco (**Manduca** sp. y **Heliothis** sp.) en las grandes plantaciones de la Compañía Colombiana de Tabaco en los años 1932 - 1936 (Gallego, 7).

La mayoría de los estudios sobre el género **Polistes** se han dirigido sobre el comportamiento social de las avispas, habiéndose realizado algunos sobre los hábitos alimenticios y la forma de distribución de las colonias en campos cultivados con algodón, maíz y tabaco (Gallego, 7; Gillaspay, 9; Kirkton, 10; Lawson et al, 11; Rabb, 14; Rabb y Lawson, 15).

Los objetivos de este estudio fueron conocer aspectos básicos sobre la biología, el comportamiento y el potencial de predación de **Polistes** y aspectos aplicados sobre las formas de manejo de las colonias en cultivos comerciales de yuca.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Generalidades.

El estudio se realizó en el CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. El Dr. A. S. Menke, de la división de Entomología del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, determinó el predador como **Polistes erythrocephalus** Ltr. (Hymenoptera: Vespidae).

Los primeros trabajos se iniciaron en febrero de 1974 y continuaron hasta 1980. Como albergue para las colonias de *Polistes*, se construyó un rancho con guadua (*Guadua angustifolia* Kunth) y palmiche (*Sabal mauritiformes* Karst), el techo en forma de kiosco de cuatro aguas sobre una base cuadrada de 2 m y altura de 2 m, instalándose en el centro de un lote cultivado con diferentes variedades de yuca. Posteriormente se colonizaron otros 4 ranchos.

2.2. Ciclo biológico.

Para estudiar en condiciones naturales el estado de huevo se marcaron veinte nidos, que estaban en la etapa inicial de su desarrollo, con treinta a cincuenta celdas, ocupadas en un 80 o/o por huevos. Se extrajeron aproximadamente diez huevos de cada nido entre las seis y las siete de la mañana. Se hizo el croquis del nido situando la posición de las celdas, lo mismo que la base o pedúnculo del nido. Las observaciones se realizaron durante todo el día hasta las siete de la noche.

Para estudiar los estados de la larva y pupa se escogieron diez colonias que tuvieran el 50 o/o de las celdas ocupadas por larvas y las restantes por huevos. Diariamente se anotaron los cambios en las observaciones de las siete de la mañana y de la noche.

Para estudiar el estado adulto se escogieron veinte colonias con más de cien celdas; ocupadas en un 40 o/o por pupas. Los adultos se marcaron en el tórax con esmalte blanco para uñas, entre las 9 y las 11 de la noche, utilizando bolsas plásticas transparentes y un equipo portátil de gas carbónico. Los nidos se observaron diariamente en las horas de la noche. La aparición de un nuevo adulto se constató primero sobre el croquis y luego se marcaron con colores diferentes cada día. Las observaciones continuaron hasta la desaparición de los 90 adultos que se lograron marcar durante tres semanas.

2.3. Variación de la relación de sexos según el tamaño del nido.

En diferentes lugares se recolectaron 156 nidos con todos sus adultos entre las siete y las diez de la noche. Se contabilizaron el número de celdas, huevos, larvas, pupas machos y hembras.

2.4. Capacidad de predación.

En jaulas de malla (2.5 x 2.5 x 2.5 m) se confinaron quince plantas (tres hileras de cinco), sembradas en potes plásticos (30 cm diámetro x 40 cm de fondo) y su área foliar podada en un 50 o/o. Se introdujeron cinco colo-

nias de avispas en cada jaula; como complemento alimenticio se usó solución de miel de abejas (1 parte de miel por 1 parte de agua). Como fuente de celulosa para la construcción de los nidos se emplearon hojas de “papel toalla”. Sobre el piso se colocaron dos bandejas plásticas con agua.

El primer conteo se efectuó a las ocho de la mañana cuando se repusieron las larvas del gusano cachón (2o. y 3er. instar) consumidas el día anterior. El segundo conteo se efectuó a las cinco de la tarde.

Los datos de precipitación (mm), temperatura (max. y min. °C) y brillo solar (horas), se tomaron de los registros de la Estación Meteorológica de la granja del CIAT.

2.5. Manejo de las colonias de *Polistes*.

Los diferentes métodos de recolección, transporte y establecimiento se probaron con más de trescientos nidos de *Polistes* en quince fincas ubicadas en la zona yuquera entre Armenia y Caicedonia. Se utilizaron materiales que los agricultores pueden obtener en sus propias fincas como guadua, hojas de palma, hojas de cabuya u hojas de plátano.

2.6. Efecto del *Bacillus thurigiensis* sobre *P. erythrocephalus*.

Se determinó la acción de *B. thurigiensis* sobre las avispas, dado el caso que sea necesario aplicar el producto sobre un cultivo donde ya se hayan establecido colonias de *Polistes*.

El ensayo se dividió en tres partes: 30 larvas (2 y 3 instar) de *E. ello* alimentadas con hojas de yuca tratadas con el producto comercial (3 g/ litro agua), se ofrecieron durante dos días a los adultos de cinco nidos de *Polistes*. Después de diez días de observaciones se ofreció el producto (4 g/ litro) a los adultos en solución de miel de abejas (3 partes de miel, 1 parte de agua destilada). Pasados otros diez días se asperjó del producto comercial (4 g/litro agua) sobre los nidos y todos sus adultos y se observaron por diez días más.

2.7. Enemigos naturales.

Se recolectaron cuatrocientos doce (412) nidos (más de 200 celdas/nido) en diferentes localidades (Pradera, Santander de Quilichao, Caicedonia, Tulúa, Palmira). Se determinaron los porcentajes de parasitismo y los parasitoides más frecuentes.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Ciclo biológico de *P. erythrocephalus*.

La duración del ciclo biológico de *P. erythrocephalus* osciló entre 91 y 131 días. Los estados de huevo, larva, pupa, y adulto duraron en promedio 14, 29, 22 y 45 días respectivamente (Cuadro 1).

3.2. Diferencia morfológica de sexos.

El abdomen de las hembras posee seis urómeros y siete el de los machos, siendo el último segmento de forma más aguda en las hembras y más bien redondeado en los machos, los que a su vez no poseen aguijón. El número de segmentos antenales o artejos es de doce en las hembras y de trece en los machos.

3.3. Preferencia de habitat.

No se pudo determinar un lugar que específicamente las avispas prefieren para la construcción de sus nidos o avisperos, pues las construyen en el campo y en la ciudad, bajo los techos de las casas, en los aleros, en los marcos de ventanas y balcones; también bajo el piso de madera, en el sótano, lo mismo que bajo los techos de establos, pesebreras, marraneras y saladeros (teja de barro o palmiche, no de eternit o de zinc), bajo los puentes, en construcciones abandonadas, en las ramas de árboles y arbustos, etc.

En poblaciones del Valle del Cauca (Palmira, Pradera, Candelaria, Florida, Zarzal, Obando y otras) se observaron altas poblaciones de nidos (hasta 300/casa) construidos bajo el techo de las casas, en el espacio que queda entre el entejado (teja de barro) y el cielo raso o falso cielo comúnmente llamado "desván" o "zarzo". Aparentemente este es un lugar muy seguro para la construcción de sus nidos, en el cual encuentran protección de la lluvia, de los rayos directos del sol, del viento, de otros insectos (hormigas y cucarachas), de vertebrados (ratones) y de su principal enemigo el hombre. Los avisperos se encontraron con mayor frecuencia en lugares cercanos a alguna fuente de agua.

3.4. Variación de la proporción de sexos según el tamaño del nido.

El número de adultos por nido se incrementa en la misma medida que el número de celdas. Por lo general el número de hembras aumenta en mayor proporción, pero en nidos mayores de trescientas celdas la proporción de sexos tiende a igualarse (Cuadro 2).

Ciclo biológico de *Polistes erythrocephalus* Ltr.

Estados	Individuos observados	Tiempo mínimo (días)	Tiempo máximo (días)	Tiempo promedio (días)
Huevo	28 10 nidos	13	15	14
Larva	27 5 nidos	24	32	29
Pupa	30 5 nidos	19	24	22
Adulto	68 20 nidos	35	60	45
TOTAL	153	91	131	110

Latitud 3° 30' N, Longitud 76 22' 21''W, 965 m. s.n.m., 23.7°C.

Cuadro 2

Variación de la proporción de sexos según el tamaño del nido en colonias de *Polistes erythrocephalus*

Tamaño del nido No. celdas/nido	Total nidos observados	Promedio huevos/nido (SE)	Promedio larvas/nido (SE)	Promedio pupas/nido (SE)	Promedio adultos/nido		Proporción sexos
					Hembras (SE)	Machos (SE)	
1- 50	71	17.1 (0.75)	8.1 (0.91)	2.3 (0.44)	9.4 (0.65)	0.0	9.4:0
51- 100	28	26.4 (1.9)	27.3 (2.2)	12.8 (1.0)	11.2 (1.5)	1.0 (0.6)	11.2:1
101- 200	38	48.0 (3.8)	42.3 (3.7)	25.4 (2.5)	22.0 (1.3)	3.7 (1.2)	6:1
201- 300	11	27 (11.4)	34.7 (14.4)	28.2 (9.4)	35.3 (5.3)	10.8 (4.2)	3.3:1
301- 400	8	40.1 (19.7)	42.9 (21.3)	45.8 (13.0)	55.0 (9.3)	26.8 (7.0)	2.1:1

En nidos menores de cincuenta celdas la población de adultos está constituida sólo por hembras (reina y obreras), lo cual viene a confirmar que sólo hembras acompañan a la reina hembra fecundada, al salir del “nido madre” para fundar una nueva colonia y que los machos encontrados sobre los nidos mayores de cincuenta celdas son parte de la descendencia de la reina.

3.5. Capacidad de predación.

P. erythrocephalus no prefiere determinado tipo de larvas, pues consumen larvas de **Alabama argillacea**, **Manduca sexta**.

La mejor prueba de la adaptación de **Polistes** a las jaulas de malla fue el crecimiento (número de celdas) de los nidos colocados y la construcción de otros; pues las avispas encontraron en las jaulas todo lo necesario para su desarrollo.

De los datos registrados durante noventa días no se encontró relación entre el número de larvas de **E. ello** consumidas en un día y el número de avispas presentes en la jaula. Se puede suponer que el número de larvas consumidas se relaciona con otro factor diferente al número de adultos de la colonia.

Al ofrecer 2347 larvas de **E. ello** durante 10 días, 16 colonias consumieron 1779 (Cuadro 3), estimando el consumo diario promedio en 0.6 larvas de **E. ello**, el mínimo en 0.05 y el máximo en 1.3 larvas. Al ofrecer 840 larvas de **E. ello** (60/día) a seis colonias de avispas (3 nidos/jaula), el consumo diario de una larva de **Polistes** se estimó entre 0.08 y 1.1 larvas de **E. ello**, con un promedio de 0.47 (Cuadro 4).

3.6. Efecto de Bacillus thuringiensis sobre Polistes erythrocephalus.

Después de más de treinta días el crecimiento de la población de las cinco (5) colonias fue normal, sin observar mortalidad en las larvas ni en los adultos. De acuerdo a lo anterior se puede suponer que en la concentración y las condiciones del trabajo **Bacillus thuringiensis** se presenta como inocua para **P. erythrocephalus** en cualquiera de sus estados biológicos.

3.7. Enemigos naturales.

Los enemigos naturales de **Polistes** son artrópodos de diferentes órdenes: Himenoptera (10), coleoptera (3), lepidoptera (2), diptera (2), psocoptera (1), strepsiptera (1) y acarina (1 parasitiforme, 2 acariforme).

Cuadro 3

Predación de *E. ello* por *Polistes erythrocephalus* en 3 jaulas de malla durante 10 días (a) por 16 colonias (b).

Jaula No.	Larvas de <i>Polistes</i>		Incremento larvas <i>Polistes</i>	Promedio larvas <i>Polistes</i>	Total larvas <i>E. ello</i> consumidas	Consumo larvas <i>E. ello</i> por larvas de <i>Polistes</i>	
	Iniciales	Finales				Mínimo	Máximo
1	164	191	27	177.5	741	0.05	0.6
2	66	76	10	71.0	668	0.09	1.2
3	33	61	28	47.0	370	0.09	1.3
	263	328	65	295.5	1779		

a) Cada 24 horas se suministraron de 75 a 112 larvas de *E. ello* por jaula.

b) 10 colonias en la primera jaula, 3 en la segunda y 3 en la tercera.

Cuadro 4

Predación de **E. ello** por **Polistes erythrocephalus** en 2 jaulas de malla durante 14 días (a) por 6 colonias (b)

Jaula No.	Larvas de Polistes		Incremento larvas Polistes	Promedio larvas Polistes	Total larvas E. ello consumidas	Consumo larvas E. ello por larvas de Polistes	
	iniciales	finales				Mínimo	Máximo
1	29	48	19	39.3	203	0.08	0.7
2	26	46	20	33.3	256	0.4	1.1
	55	94	39	72.6	459		

a) Cada 24 horas se suministraron 30 larvas de **E. ello** por jaula.

b) 3 colonias/jaula.

De 412 nidos (mayores de 200 celdas) el 17 o/o estaban parasitados por **Oxysarcodexia** sp (Diptera: Sarcophagidae) y el 14 o/o de los 2 239 puparios del parásito estaban atacados por los himenopteros **Pachyneuron** sp (Pteromalidae) y **Brachymeria conica** Ashmead (Chalcididae). Otros parasitoides frecuentes fueron **Phachysomoides stupidus** (Hymenoptera: Ichneumonidae), en los estados de larva y pupa, y **Xenos** sp (Strepsiptera: Stylopiidae) en el estado de adulto.

3.8. Manejo de las colonias de Polistes.

Los nidos seleccionados deben tener más de cien celdas, ocupadas en su mayoría por larvas y pupas y no menos de quince adultos. En la recolección, que debe hacerse en la noche o antes de las 7 a.m. para capturar los adultos, se puede utilizar bolsas transparentes de polietileno de buen calibre (0.05 mm). Cuando las colonias se van a establecer en un lugar distante del sitio de recolección o cuando no se van a instalar rápidamente, se aconseja pasar los adultos de cada nido a un frasco de vidrio. Tanto el frasco como el nido se deben identificar para cuando se vayan a instalar.

Para transportar los adultos en frascos de vidrio se aconseja acomodarlos en cajones de icopor, colocando en el fondo hielo y aserrín, en el fondo para mantener baja la temperatura durante el viaje (12-24 horas). Los nidos se pueden transportar en cajones de madera o cartón colocados sobre un fondo de algodón o papel periódico, acomodando el frente del nido hacia arriba.

Las colonias se deben establecer entre las seis y las siete de la mañana. En el rancho o caseta, el pedúnculo de los nidos se amarra a una puntilla (2-3 pulgadas) con alambre de cobre. Después se liberan los adultos acercando cada frasco a su respectivo nido.

Los materiales más apropiados en la construcción de los refugios son la guadua y el palmiche, pudiéndose reemplazar la guadua por la madera lo mismo que el palmiche por hojas de plátano o de cabuya. Las colonias se desarrollaron mejor en ranchos contruidos en forma de kiosko (cuatro aguas o caídas), pues al parecer ofrecen mayor protección de la lluvia, el viento y los rayos solares. Los ranchos de una o dos aguas se pueden utilizar pero teniendo en cuenta la dirección del viento y de los rayos solares. Las colonias aceptaron como refugios cajones de madera sobre un soporte de guadua (1.20 m de altura), colocados en medio del cultivo, o cajones utilizados en el transporte de tomate, colgados de las ramas de árboles cercanos al cultivo.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. El macho de **P. erythrocephalus** presenta mayor número de segmentos tanto en las antenas (12 artejos en la hembra y 13 en el macho) como en el abdomen (6 uromeros en la hembra y 7 en el macho), y no posee aguijón.
- 4.2. El ciclo biológico de **P. erythrocephalus** dura entre 91 y 131 días, con 110 días en promedio (14 días en huevo, 29 en larva, 22 en pupa 45 en adulto).
- 4.3. En nidos menores de 50 celdas la población de adultos está conformada solo por hembras (reina y obreras).
- 4.4. La proporción de machos y hembras tiende a ser igual en nidos mayores de 300 celdas.
- 4.5. El consumo diario de larvas del cachón por una colonia de avispas está relacionado o depende del número de larvas del nido y no del número de adultos.
- 4.6. El consumo diario promedio de una larva de avispa es de 0.5 larvas del gusano cachón (II y III instar) oscilando entre 1.4 y 0.08 larvas/día.
- 4.7. La bacteria **Bacillus thuringiensis** resultó inocua para cualquiera de los estados biológicos de **P. erythrocephalus**.
- 4.8. Los parasitoides más frecuentes de larvas y pupas de **Polistes** fueron **Oxysarcodexia** sp (Diptera: Sarcophagidae) y **Pachysomoides stupidus** (Hymenoptera: Ichneumonidae); el de adultos fue **Xenos** sp (Strepsiptera: Stylopidae).
- 4.9. Los nidos para colonizar un nuevo rancho deben ser mayores de 100 celdas y se deben transportar con todos sus adultos.
- 4.10. El número de nidos necesarios para la colonización de un rancho puede variar entre cinco y diez nidos.
- 4.11. El rancho de cuatro aguas o caídas es el más apropiado para una buena colonización, hecho de guadua y palmiche.

5. BIBLIOGRAFIA

1. ARIAS, B.; BELLOTTI, A. C. Eficiencia del **Bacillus thuringiensis** sobre el gusano cachón de la yuca **Erinnyis ello** en un programa de control biológico. In: Yuca; Control Integrado de Plagas. CIAT-PNUD, 1983.
2. BELLOTTI, A. C.; SCHOONHOVEN, A. VAN; PEÑA, J. E. Insectos que atacan la yuca. CIAT, 1976. 16 p.
3. BELLOTTI, A. C.; SCHOONHOVEN A. VAN. Plagas de la yuca y su control. CIAT, 1978. 17 p.
4. BELLOTTI, A. C.; REYES, J. A.; ARIAS, B. Manejo de una explosión del gusano cachón **Erinnyis ello**(Lepidoptera: Shingidae). CIAT, 1983.
5. BEQUAERT, J. C. Color variation in the american social wasp **Polistes canadensis** (L.) with descriptions of two new forms (Hymenoptera: Vespidae) Bol. Entomol. Venezolano v. 2, p. 107-124. 1943.
6. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Annual Report, 1974. Cali, Colombia. 260 p.
7. GALLEGO, F. L. El gusano de las hojas de la yuca; Estudios Entomológicos Rev. Fac. Nal. Agron. Col. v. 11, p. 84-120. 1950.
8. GILMORE, J. U. Observations on the hornworms attacking tobacco in Tennessee and Kentucky. J. Econ. Entomol. v. 31, p. 706-712. 1938.
9. GILLASPY, J. E. Experiments with papernest wasps for control of injurious caterpillars. S. Tex. Agr. v. 1, n. 7, p. 20-21. 1970.
10. KIRKTON, R. M. Habitat management and its effects on populations of **Polistes** and **Iridomyrmex**. Proc. Tall. Timbers conf. v. 2, p. 243-246. 1970.
11. LAWSON, F. R.; RABB, R. L.; GUTHRIE, F. E.; BOWERY, F. E. Studies of an integrated control system for hornworms on tobacco. J. Econ. Entomol. v. 54, p. 93-97. 1961.
12. MADDEN, A. H.; CHAMBERLIN, F. S. Biology of the tobacco hornworm in the southern cigar tobacco district. U. S. Dept. Agric. Tech. Bull. n. 895. 1945. 50 p.
13. PINTO DA FONSECA, J. Mandarova da mandioca. Secretaria da Agricultura. Folheto n. 98. 1943. 14 p.

14. RABB R. L. Observations on the predatory activities of *Polistes annularis*, *P. fuscatus* and *P. exclamaus*. North Carolina State College. 1953. 61 p.
15. RABB, R. L.; LAWSON F. R. Some factors influencing the predation of *Polistes* wasps on the tobacco hornworm. J. Econ. Entomol. v. 50, n. 6, p. 778-784. 1957.
16. REYES, J. A. Agentes benéficos en el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y su importancia en la regulación de las poblaciones de plagas. In: yuca; control integrado de plagas. CIAT-PNUD, 1983.
17. RICHARDS, O. W. Biology of social wasp (Hymenoptera: Vespidae). Biological Reviews. v. 46, n. 4, p. 483. 1971.
18. WEST EBERHARD, M. J. Foundress associations in Polistine wasps; dominance hierarchies and the evolution of social behaviour, Science. v. 157, p. 1584-85. 1967.
19. WEST EBERHARD, M. J. The social biology of Polistine wasps. Univ. Mich. Misc. Publs Mus. Zool., Public. n. 140. 1969. 101 p.
20. YOSHIKAWA, K. Introductory studies on the life economy of polistine wasps. VI Geographical distribution and its ecological significance. Osaka City Univ. J. Biol. v. 13, p. 19 - 44. 1962.