

Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), en Lima, Perú

Javier Vásquez¹

Agustín Martos¹

RESUMEN

VÁSQUEZ J, MARTOS A. 2003. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), en Lima, Perú. Rev. per. Ent. 43.- El presente trabajo se realizó en el laboratorio de crianza de insectos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controladas, a 22,8-24,8 °C y 86 %, respectivamente. Se determinó la susceptibilidad relativa de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae). Las pruebas de susceptibilidad se hicieron sobre el segundo, tercer y cuarto estadio larval de *S. frugiperda*, empleándose concentraciones de 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9 conidias/ml. Bajo las condiciones en que se realizó el experimento, el tercer estadio fue el más susceptible con 55,3 % de mortalidad acumulada. La concentración que produjo la mayor mortalidad fue 1×10^9 conidias/ml, con un porcentaje de 87,8 %. Los valores de la concentración letal media (CL₅₀) fueron $2,7 \times 10^7$; $2,5 \times 10^6$ y $3,6 \times 10^6$ conidias/ml para el segundo, tercer y cuarto estadios, respectivamente. Los valores del tiempo letal medio (TL₅₀) fueron inversamente proporcionales a la concentración del hongo.

Palabras clave. *Metarhizium anisopliae*, *Spodoptera frugiperda*, Perú, susceptibilidad a entomopatógenos.

SUMMARY

VÁSQUEZ J, MARTOS A. 2003. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), in Lima, Peru. Rev. per. Ent. 43.- This work was carried out at the Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Peru, under laboratory conditions, at 22,8-24,8 °C and 86 % relative humidity, in order to determine the relative susceptibility of second, third and fourth instars of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 and 1×10^9 conidia/ml concentrations of the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae). Third instar was most susceptible, 55,3 % accumulated mortality. The concentration causing the highest accumulated mortality was 1×10^9 conidia/ml, with 87,8% mortality. Mean lethal concentration (LC₅₀) were $2,7 \times 10^7$; $2,5 \times 10^6$ and $3,6 \times 10^6$ conidia/ml for second, third and fourth instars, respectively. Mean lethal time period (TL₅₀) values were indirectly correlated to pathogen concentration.

Key words. *Metarhizium anisopliae*, *Spodoptera frugiperda*, Peru, susceptibility to entomopathogens.

Introducción

El empleo de microorganismos patógenos de insectos para el control de plagas agrícolas cada vez se hace más frecuente en el mundo debido a su efectividad en el control, con el beneficio adicional de no dejar residuos tóxicos en los productos vegetales que el hombre y animales consumen. Además, no crean desequilibrios medioambientales tal como ocurre cuando se emplean insecticidas orgánicos sintéticos. Los hongos patógenos de insectos, en particular, están ampliamente difundidos en la naturaleza, siendo muy diversificados y abundantes. *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin es una especie muy conocida que ha sido aislada, cultivada y ensayada en labora-

torio en el control de insectos plaga que atacan a muchos cultivos, con resultados muy alentadores.

Elie Metchnikoff (1845-1916) condujo en 1879, en Rusia, los primeros experimentos de control microbiológico utilizando el hongo *Metarhizium anisopliae* sobre larvas del escarabajo *Anisoplia austriaca* Herbst (Coleoptera: Scarabaeidae) (VAN DEN BOSCH 1978). ALVES *et al.* (1987) estudiaron en el laboratorio la patogenicidad de *M. anisopliae* sobre *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae), plaga del plátano en Brasil, concluyendo que el hongo fue patógeno a la plaga, ocasionando una mortalidad superior al 85 %. Bajo condiciones de laboratorio, LLERENA & CORINA (1999) evaluaron la efectividad de *M. anisopliae* para el control de larvas de *Feltia experta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), con resultados muy prometedores, obteniéndose una mortalidad de 47 %.

¹ Departamento de Entomología y Fitopatología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Apartado 456, Lima-100, Perú. E-mail: jaque@lamolina.edu.pe amartos@la.molina.edu.pe

En el Perú no existen reportes que evalúen el efecto de *M. anisopliae* sobre *Spodoptera frugiperda*, por lo que el presente trabajo tiene el objetivo de determinar la susceptibilidad relativa de esta especie, bajo condiciones de laboratorio.

Material y métodos

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de crianza de insectos del Departamento de Entomología y Fitopatología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, de octubre 2000 a abril 2001, bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controladas, a 22,8-24,8 °C y 86 %, respectivamente.

Material biológico: Cepa nativa de *Metarhizium anisopliae* identificada con el código CCB-LE 302, aislada de *Metamasius hemipterus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), recolectada el 16 mayo 1996 en Satipo, departamento de Junín, Perú, proporcionada por el Programa Nacional de Control Biológico (PNCB), Vitarte, Lima. Las larvas de segundo, tercer y cuarto estadios de *Spodoptera frugiperda* provinieron de la crianza masal que se llevó a cabo en el laboratorio de crianza de insectos de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Pruebas preliminares de infección: Se diluyó la cepa del hongo, donde se sumergió 50 larvas de tercer estadio por espacio de 1 min. Las larvas muertas fueron colocadas en cámara húmeda a fin de favorecer la reproducción del hongo para la obtención del inóculo.

Obtención del inóculo: Se sembró las conidias obtenidas en las pruebas preliminares de infección en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, incubándose a 25 °C por 21 d, después de lo cual se procedió a cosechar las conidias adicionando agua destilada y un dispersante (Tween) al 0,1 %.

Viabilidad de conidias: Se cuantificó la viabilidad de los inóculos antes de entrar en contacto con el insecto, para lo que se tomó un portaobjeto estéril en cuyos extremos se colocó una gota de medio de cultivo. Al enfriar, se añadió 0,01 ml de la suspensión menos concentrada (1×10^6 conidias/ml). Este portaobjeto se incubó en cámara húmeda a 25 °C por 24 h, luego se contó el número de conidias germinadas y no germinadas; encontrándose un porcentaje de germinación de 95,0 %.

Bioensayos de susceptibilidad: La infección de las larvas se consiguió por inmersión, para ello se sumergió 10 larvas durante 1 min en una

placa petri que contenía la suspensión de conidias, luego se acondicionaron individualmente en placas petri que contenían en el fondo papel toalla, un pedazo de algodón quirúrgico humedecido, y una porción de hoja de higuera (*Ricinus communis* L.) como alimento. La evaluación de la mortalidad se hizo diariamente, por espacio de 10 d.

Diseño experimental: Se empleó un diseño completamente randomizado que comprendió cinco tratamientos (un testigo y cuatro concentraciones: 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9 conidias/ml), con tres repeticiones. Se consideró 10 larvas por unidad experimental.

Análisis estadístico: Se realizó un análisis de variancia con un nivel de significancia de 0,05. Los datos originales de mortalidad obtenidos durante las evaluaciones fueron transformados a logaritmo de base 10. Se aplicó una prueba de comparación de medias denominada test de Duncan (STEEL & TORRIE 1980). Para el cálculo de la dosis y tiempo letal medios para cada estadio larval, se aplicó el análisis probit (HADDAD 1986) y la transformación a logaritmo neperiano de la concentración y tiempo.

Resultados y discusión

Los valores de mortalidad se expresan porcentajes de mortalidad acumulada.

Mortalidad de larvas

Análisis de variancia: En la interacción concentración de conidias por estadio larval hay diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) sobre la mortalidad acumulada del tercer al décimo días de evaluación (Tabla 1), lo que significa que cuando las cuatro concentraciones interactúan con los tres estadios larvales se producen mortalidades estadísticamente diferentes y altamente significativas, pues las altas concentraciones causan las mayores mortalidades en los estadios larvales inferiores, que son más susceptibles, manteniéndose esta diferencia a lo largo del tiempo. En el primer día de evaluación no se observó mortalidad ya que en la interacción hospedero-patógeno requiere como mínimo 48 h para obtener mortalidad. También se observó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) entre concentraciones de conidias y entre estadios larvales del tercer al décimo días de evaluación; estas diferencias altamente significativas se deben a que las mortalidades ocurridas en *S. frugiperda* fueron directamente proporcionales a las

TABLA 1.- Análisis de variancia de la mortalidad acumulada de larvas de *S. frugiperda* (estadios II, III, IV).

| F.V. | g.l. | Cuadrados medidos por día de evaluación | | | | | | | | | |
|---------------|------|---|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| concentración | 4 | 0,00 n.s. | 0,007 n.s. | 0,478 ** | 0,857 ** | 0,955 ** | 1,136 ** | 1,148 ** | 1,148 ** | 1,159 ** | 1,178 ** |
| estadio | 2 | 0,00 n.s. | 0,032 * | 0,516 ** | 0,910 ** | 0,971 ** | 0,736 ** | 0,734 ** | 0,734 ** | 0,772 ** | 0,698 ** |
| conc. x est. | 8 | 0,00 n.s. | 0,007 n.s. | 0,078 ** | 0,092 ** | 0,109 ** | 0,118 ** | 0,133 ** | 0,133 ** | 0,142 ** | 0,124 ** |
| error | 30 | 0,00 | 0,006 | 0,021 | 0,028 | 0,019 | 0,015 | 0,014 | 0,014 | 0,014 | 0,014 |
| Total | 44 | | | | | | | | | | |
| C.V.(%) | | 0,00 | 7,57 | 11,56 | 11,96 | 9,77 | 8,17 | 7,74 | 7,74 | 7,84 | 7,80 |

n.s.: sin diferencias significativas ($P > 0,05$)*: diferencias significativas ($P < 0,05$)**: diferencias altamente significativas ($P < 0,01$)TABLA 2.- Mortalidad promedio acumulada de larvas de *S. frugiperda* (estadios II, III, IV).

| conidias/ml | Días de evaluación | | | | | | | | | |
|-----------------|--------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1×10^6 | 0,00 a | 0,00 a | 4,44 cd | 8,89 c | 13,33 c | 14,44 c | 17,78 c | 17,78 c | 17,78 c | 17,78 c |
| 1×10^7 | 0,00 a | 1,11 a | 8,89 c | 24,44 b | 30,00 b | 33,33 b | 35,56 b | 35,56 b | 37,78 b | 37,78 b |
| 1×10^8 | 0,00 a | 1,11 a | 18,89 b | 34,44 b | 35,56 b | 41,11 b | 43,33 b | 43,33 b | 46,67 b | 47,78 b |
| 1×10^9 | 0,00 a | 2,22 a | 37,78 a | 67,78 a | 75,56 a | 84,44 a | 87,78 a | 87,78 a | 87,78 a | 87,78 a |
| testigo | 0,00 a | 0,00 a | 0,00 d | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d |

Las medias con letra semejante en la misma columna no difieren significativamente (Duncan, alfa $< 0,05$).TABLA 3.- Mortalidad promedio acumulada de los estadios larvales II, III y IV de *S. frugiperda*, según días de evaluación.

| estadio larval | Días de evaluación | | | | | | | | | |
|----------------|--------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| II | 0,00 a | 2,67 a | 24,00 a | 34,67 a | 38,00 a | 38,00 a | 38,00 b | 38,00 b | 39,33 b | 39,33 b |
| III | 0,00 a | 0,00 b | 10,00 b | 38,00 a | 43,33 a | 48,67 a | 53,33 a | 53,33 a | 55,33 a | 55,33 a |
| IV | 0,00 a | 0,00 b | 0,00 c | 8,67 b | 11,33 b | 17,33 b | 19,33 c | 19,33 c | 19,33 c | 20,00 c |

Las medias con letra semejante en la misma columna no difieren significativamente (Duncan, alfa $< 0,05$).

TABLA 4.- Mortalidad promedio acumulada de los estadios larvales II, III y IV de *S. frugiperda*.

| conidias /ml | II días | | | | | | | | | | III días | | | | | | | | | | IV días | | | | | | | | | |
|---------------------|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|---------|---------|---------|--------|--|--|--|--|
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | | | | | |
| | 1 x 10 ⁶ | 6,67 c | 10,00 cd | 16,67 cd | 16,67 cd | 16,67 cd | 16,67 cd | 16,67 cd | 16,67 cd | 6,67 bc | 16,67 cd | 23,33 b | 26,67 b | 33,33 b | 33,33 b | 33,33 b | 33,33 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | | | | |
| 1 x 10 ⁷ | 10,00 c | 30,00 bc | 36,67 bc | 36,67 bc | 36,67 bc | 36,67 bc | 36,67 bc | 36,67 bc | 16,67 b | 43,33 bc | 53,33 a | 60,00 a | 66,67 a | 66,67 a | 73,33 a | 73,33 a | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | | | | | |
| 1 x 10 ⁸ | 40,00 b | 46,67 b | 46,67 b | 46,67 b | 46,67 b | 46,67 b | 53,33 b | 53,33 b | 16,67 b | 56,67 ab | 60,00 a | 73,33 a | 80,00 a | 80,00 a | 83,33 a | 83,33 a | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 3,33 b | 6,67 b | | | | | |
| 1 x 10 ⁹ | 63,00 a | 86,67 a | 90,00 a | 90,00 a | 90,00 a | 90,00 a | 90,00 a | 90,00 a | 40,00 a | 73,33 a | 80,00 a | 83,33 a | 86,67 a | 86,67 a | 86,67 a | 86,67 a | 10,00 a | 43,33 a | 56,67 a | 80,00 a | 86,67 a | 86,67 a | 86,67 a | 86,67 a | 86,67 a | | | | | |
| testigo | 0,00 c | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 c | 0,00 d | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 c | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 b | 0,00 a | | | | | |

Las medias con letra semejante en la misma columna no difieren significativamente (Duncan, alfa < 0,05)

TABLA 5.- Actividad patogénica de *M. anisopliae* sobre *S. frugiperda*.

| estadio larval | Concentración de <i>Metarhizium anisopliae</i> (conidias/ml) | | | | | | | | CL ₅₀ (conidias/ml) | IC** |
|-------------------|--|-----------|-------------------------|--------------|-------------------------|------------|-------------------------|---------|-----------------------------------|--|
| | 1 x 10 ⁶ | | 1 x 10 ⁷ | | 1 x 10 ⁸ | | 1 x 10 ⁹ | | | |
| | TL ₅₀ (días) | IC* | TL ₅₀ (días) | IC* | TL ₅₀ (días) | IC* | TL ₅₀ (días) | IC* | | |
| II | 17.1 | 13,1-26,7 | 9.9 | 8,4-12,2 | 7.1 | 5,5-10,2 | 2.9 | 2,5-3,5 | 2,7 x 10 ⁷ | 1,1 x 10 ⁷ -6,1 x 10 ⁷ |
| III | 10.6 | 9,2-12,7 | 5.9 | 5,0-7,2 | 4.9 | 4,2-5,9 | 3.5 | 3,1-4,5 | 2,5 x 10 ⁶ | 5,4 x 10 ⁵ -6,4 x 10 ⁶ |
| IV | x (a) | x (a) | 22.7 | 13,7-743 008 | 18.5 | 12,8-738,7 | 4.8 | 4,5-5,2 | 3,6 x 10 ⁸ | 2,4 x 10 ⁸ -5,5 x 10 ⁸ |

x (a) : No se calculó debido a que no se produjo mortalidad de larvas hasta el sexto día de evaluación.

IC* : Intervalo de confianza al 95 % (días).

IC** : Intervalo de confianza al 95 % (conidias/ml).

concentraciones del hongo.

Mortalidad acumulada: La concentración 1×10^9 conidias/ml produjo los valores más altos de mortalidad acumulada con respecto a las otras concentraciones, del segundo al séptimo días de evaluación (2,22; 37,78; 67,78; 75,56; 84,44. y 87,78 %, respectivamente), siendo estadísticamente diferente a las demás concentraciones del tercer al décimo día, no encontrándose diferencias significativas al primer y segundo día de evaluación (Tabla 2). Con esta concentración la mortalidad también aumenta considerablemente al sexto día, registrándose 84,44 %, luego el incremento es poco significativo, llegando al séptimo día a 87,78 %. La concentración 1×10^9 conidias/ml fue la más eficaz para controlar *S. frugiperda*. Varios investigadores sostienen que existe correlación positiva entre el número de conidias infectivas y la mortalidad por micosis (VILAS & ALVES 1988, BRENES & CARVALHO 1994). En este estudio, los resultados obtenidos siguen la misma tendencia.

Al comparar las mortalidades acumuladas del segundo, tercer y cuarto estadios larvales se notó que el segundo estadio presentó la mayor mortalidad acumulada al segundo y tercer días de evaluación (2,67 y 24,00 %, respectivamente), mientras del cuarto al sexto días no difirió significativamente con la mortalidad registrada en el tercer estadio; al séptimo día la mortalidad acumulada fue significativamente mayor en el tercer estadio (53,33 %), después del cual no hubo incremento en la mortalidad; mientras que en el segundo y cuarto estadios las mortalidades no superaron el 50 %, aún al décimo día (Tabla 3). Los tres estadios mostraron diferentes grados de susceptibilidad al hongo, lo que puede atribuirse a que la capacidad del entomopatógeno para infectar un hospedero puede estar influenciada por el estado fisiológico del insecto. En este caso el tercer estadio fue el más susceptible, debido probablemente a que su sistema de defensa celular es menos desarrollado.

En las mortalidades acumuladas registradas en el segundo, tercer y cuarto estadios, causadas por las diferentes concentraciones de conidias, se ha considerado la interacción del tercer al décimo días, debido a que en ellos ocurrieron diferencias altamente significativas (Tablas 1 y 4). En el segundo estadio la mayor mortalidad acumulada se obtuvo con 1×10^9 conidias/ml, del tercer al quinto días (63,00; 86,67, y 90,00 %, respectivamente), siendo significativamente diferente a las mortalidades obtenidas con 1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8 . En el tercer estadio la mayor mortalidad acumulada se obtuvo con 1×10^9 del tercer al séptimo días

(40,00; 73,33; 80,00; 83,33; y 86,67 %), notándose que solo difiere significativamente con 1×10^8 al tercer día, y con 1×10^7 al tercer y cuarto días. En el cuarto estadio la mayor mortalidad fue con 1×10^9 del tercer al séptimo días (10,00; 43,33; 56,67; 80,00, y 86,67 %), siendo estadísticamente diferente a las mortalidades obtenidas con las otras concentraciones. En el testigo no se observó mortalidad.

La concentración de 1×10^9 fue más eficaz para controlar el segundo, tercer y cuarto estadios, debido a que existe una correlación positiva entre el número de esporas infectivas y la mortalidad por micosis.

Determinación de CL_{50} y TL_{50}

La CL_{50} de *M. anisopliae* varió de acuerdo al estadio larval de *S. frugiperda* (Tabla 5); mediante el análisis probit se determinó que éstas aumentaron a medida que el estadio larval fue mayor, excepto en el tercero, en que se obtuvo una CL_{50} inferior a la del segundo, lo que indica que el tercer estadio fue más susceptible. Las CL_{50} fueron $2,7 \times 10^7$; $2,5 \times 10^6$ y $3,6 \times 10^8$ para el segundo, tercer y cuarto estadios, respectivamente. La CL_{50} tiene relación inversa a la susceptibilidad de los estadios larvales.

El TL_{50} disminuyó conforme aumentó la concentración, observándose en el tercer estadio los menores valores a concentraciones relativamente bajas (1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8), mientras que a 1×10^9 el segundo estadio tuvo el menor TL_{50} , siendo estos valores de 2,9; 3,5 y 4,8 d para el segundo, tercer y cuarto estadios, respectivamente.

Conclusiones

A nivel de laboratorio, *Spodoptera frugiperda* mostró susceptibilidad a *Metarhizium anisopliae*, siendo el tercer estadio larval el más susceptible, con 55,3 % de mortalidad acumulada. La concentración 1×10^9 conidias/ml ocasionó la mayor mortalidad acumulada, 87,8 %. Los valores calculados de CL_{50} confirmaron que el tercer estadio larval fue el más susceptible. Los valores de TL_{50} fueron directamente proporcionales al estadio larval e inversamente proporcionales a la concentración del hongo.

Agradecimientos.- Al Programa Nacional de Control Biológico, Lima, y en particular a Hilda Gómez por su asesoría y apoyo constante en la ejecución del presente trabajo.

Literatura

- Alves S, Paiva L, Myazaki I, Bastos B, Oliveira D. 1987. Controle biológico do "moloque" da bananeira (*Cosmopolites sordidus*, Germar, 1824) pelo uso de fungos entomógenos, no laboratório. *O Biológico* (São Paulo) 53: 1-6.
- Brenes S, Carvalho M. 1994. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) para el control biológico del picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar). *Manejo integr. Plagas* 31: 17-21.
- Haddad M. 1986. Análise de próbitos, pp. 374-383. In: Alves S. (Ed.), *Controle microbiano de insetos*. São Paulo, Editorial Manole.
- Llerena S, Corina Y. 1999. Efectividad de *Beauveria bassiana* (Bals.), *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok (Moniliales: Moniliaceae) y *Bacillus thuringiensis* (Fimmibacteria: Bacillaceae) en el control de *Agrotis* spp. y *Feltia experta* (Lepidoptera: Noctuidae) en papa. Tesis. Arequipa, Universidad Nacional de San Agustín.
- Steel R, Torrie J. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. Ed. 2. New York, McGraw-Hill Book Company. 633 pp.
- Van den Bosch R. 1978. Control microbiológico. Primer curso intensivo de control integrado. Lima.
- Vilas A, Alves S. 1988. Patogenicidade de *Beauveria* spp. e seu efeito asociado ao inseticida monocrotofos sobre *Castnia licus* (Drury, 1770) (Lepidoptera: Castniidae). *An. Soc. entom. Brasil* 17(2): 305-332.