

EL GENERO *Phyllophaga* (Coleoptera: Scarabaeidae) EN COSTA RICA Y AVANCES EN EL DESARROLLO DE AGENTES MICROBIANOS PARA SU CONTROL

Eduardo Hidalgo y Lorena Flores

Unidad de Fitoprotección, CATIE, Turrialba

Philip J. Shannon

Unidad de Fitoprotección, CATIE, Turrialba

Natural Resources Institute, Chatham Maritime, Reino Unido

1. INTRODUCCION

Estadios larvales de diversas especies dentro del género escarabaeido *Phyllophaga*, comúnmente conocidos como jobotos, fogotos, chobotes o gallina ciega, entre otros, son plagas de importancia económica en Mesoamérica y en algunas áreas del Norte y Sur América. Aunque el nombre de esta plaga suele ser relacionada con ataque a pastizales y caña de azúcar también causa una importante disminución en el rendimiento de otros cultivos como maíz, frijol, papa, café, solanáceas, sorgo y en viveros de especies forestales donde los síntomas del ataque van desde clorosis, marchitamiento, acame y hasta muerte de las plantas. Su patrón de ataque, en parches, y su hábitat subterráneo dificulta su control debido a que a menudo su presencia se detecta cuando el daño causado es irreparable. La aplicación preventiva de insecticidas al suelo no es efectiva en muchos sistemas de cultivo, además de representar un significativo aumento en los costos de producción y de los riesgos de contaminación del medioambiente. La escasez de opciones satisfactorias para su manejo ha provocado mucha interés en nuevos enfoques como el control biológico durante los últimos años, especialmente en uso de los entomopatógenos.

A continuación se presenta una breve análisis de la situación de esta plaga en Costa Rica, con nuevos datos económicos sobre pérdidas. Además se presenta un resumen de los avances en el programa de desarrollo de agentes microbianos que se ejecuta en el CATIE, Turrialba.

2. DAÑO Y PERDIDAS

Las larvas de *Phyllophaga* se alimentan de raíces a lo largo de los tres estadios de su desarrollo sin embargo, es

durante el tercer estadio larval cuando el nivel de daño causado a los cultivos alcanza su mayor intensidad, ocasionado la pérdida de las plantas cuando el ataque coincide con una etapa temprana en el crecimiento del vegetativo, o la disminución del rendimiento en etapas más avanzadas del cultivo. Cuando el ataque es severo, suele ocurrir en manchones, típicamente dejando parches de suelo desnudado en los cultivos.

Aunque los daños causados por *Phyllophaga* son frecuentemente citados, frecuentemente se refiere solamente al porcentaje de pérdida ó una evaluación cualitativa de daño o importancia de la plaga (Cuadro 1). Por lo tanto, es difícil estimar el valor de las pérdidas. A continuación, basándose en ciertas suposiciones, se calcula una estimación del valor del daño sufrido en maíz y caña de azúcar para ejemplificar la magnitud de las pérdidas debido a esta plaga en los cultivos atacados con mayor frecuencia en Costa Rica.

Asumiendo un porcentaje de pérdidas en maíz del 7.5% debido a plagas del suelo (probablemente subestimado) y que larvas de *Phyllophaga* sean responsables del 50% de este, la pérdida monetaria anual de rendimiento perdido sería de \$54.3 millones. Badilla (1994) reporta ataque de *Phyllophaga* en un 15% del área total sembrada de caña en ese año (alrededor de 6580 ha). Asumiendo un conservador 10% de pérdidas en el rendimiento debido al ataque de *Phyllophaga* para 1995, la pérdida económica global se calcula como \$200.9 millones (datos de producción para 1995 publicados en FAOSTAT (1996) y valores monetarios mundiales de la producción publicados en el Wall Street Journal Interactive (1996)).

Cuadro 1. Resumen de algunos datos de pérdidas y ocurrencia de daños de *Phyllophaga* en Costa Rica y América Central.

Especie	Cultivo	Pérdidas/estatus de plaga	Cita
<i>Phyllophaga</i> spp.	maíz	intermedia-mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.		plaga principal; hasta el 100%	2
<i>Phyllophaga</i> spp.	frijol	menor-mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.		plaga principal; hasta el 100%	2
<i>Phyllophaga</i> spp.		incremento de 20% en los costos de producción	2
<i>Phyllophaga</i> spp.	broccoli		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	sorgo		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	arroz		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	caña		2
<i>P. elenans</i>		6,600 ha atacados	3
<i>Phyllophaga</i> spp.	legumbres	menor-mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.	pastizales	importancia intermedia	1
<i>Phyllophaga</i> spp.			2
<i>Phyllophaga</i> spp.	no especificado	una de las plagas mas importantes	2
<i>Phyllophaga</i> spp.	fresa		2
<i>Phyllophaga</i> spp.		mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.	zanahoria		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	café	menor a mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.			2
<i>Phyllophaga</i> spp.	almácigo de café	7-13% de plantas	2
<i>Phyllophaga</i> spp.	papa	intermedia-mayor	1
<i>Phyllophaga</i> spp.		hasta 100%	2
<i>P. menetriesi</i>		25-100% de la producción	4
<i>P. obsoleta</i>		25-100% de la producción	4
<i>Phyllophaga</i> spp.	repollo	intermedia	1
<i>Phyllophaga</i> spp.			2
<i>Phyllophaga</i> spp.	tomate		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	aspárrago		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	viveros forestales		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	tabaco		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	arveja		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	remolacha		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	lechuga		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	rábano		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	manzano		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	aloe vera		2
<i>Phyllophaga</i> spp.	ciprés		2

1 = Larios y Shannon, 1989.

2 = León, 1996.

3 = Badilla, 1996.

4 = Hilje, 1994.

3. ESPECIES Y DISTRIBUCION

Las cuatro especies de *Phyllophaga* de mayor importancia económica en Costa Rica también ocurren en otros países del istmo centroamericano, su distribución siendo determinada principalmente por la precipitación y la elevación sobre el nivel del mar (King, 1984). En Costa Rica, *P. obsoleta* se encuentra en zonas altas, por lo general arriba de los 1200 msnm y en mayor abundancia, en

zonas con aproximadamente 1800 msnm. Poblaciones significativas de esta especie se encuentran en las tierras altas de Cartago (Tierra Blanca) causando daño en diversos cultivos, especialmente en papa. *P. vicina* se encuentra, con mayor frecuencia, a lo largo de la zona del Pacífico, siendo reportado en Liberia en la provincia de Guanacaste, Buenos Aires en la provincia de Puntarenas, pero no en Ingenio "El Palmar" cerca la ciudad de Puntarenas. También se han reportado capturas de adultos de esta especie en el

valle central (San José) (King, 1984). *P. elenans* tiene una distribución más localizada hacia el pacífico seco (Guanacaste y el norte de la provincia de Puntarenas), siendo estas zonas, el límite sureño de la distribución geográfica de esta especie. Utilizando trampas de luz del tipo "Luis Queiros" descrita por Silveira (1972), se han logrado capturar hasta 27000 adultos/trampa de esta especie dentro de plantaciones de caña de azúcar en Guanacaste (Badilla, 1994). *P. menetriesi* está distribuida en zonas con altitudes entre los 500 y 1800 m, siendo más abundante hacia el sur de la zona central de Costa Rica (King, 1984). Esta es una de las especies más importantes económicamente en Costa Rica, atacando maíz, café, caña de azúcar, sorgo y pastos.

4. CICLOS DE VIDA

Uno de los factores que mas ha impedido la investigación sobre estas plagas ha sido su largo ciclo de vida; en Costa Rica requieren uno y, a veces, dos años para completar su ciclo. En todas las especies citadas arriba, la emergencia y vuelo de los adultos es estimulado por la caída de las primeras lluvias fuertes al inicio de la estación lluviosa (Febrero - Junio, dependiendo de la zona). Estos se alimentan, copulan y la hembras ovipositan en el suelo por un período de 2 - 3 semanas y luego mueren. Observaciones hechas en el laboratorio muestran que una hembra de *P. menetriesi* puede ovipositar hasta unos 140

huevos durante su vida, aunque en el campo el número es probablemente mucho menor (Shannon, datos no publicados). Los adultos de *Phyllophaga* pueden alimentarse del follaje de un rango amplio de especies pero, en la práctica dependen mas de ciertas especies comunes, típicas de sus zonas ecológicas (Cuadro 2).

Después de 8 a 15 días, los huevos eclosionan y las larvas empiezan a alimentarse de raíces vivas en el suelo; son canibalistas durante todos sus tres estadios larvales. Ha sido sugerido que las larvas también pueden alimentarse de material orgánica muerta (King, 1984), sin embargo, por lo menos en el caso de *P. menetriesi*, la mortalidad de larvas del primer estadio es muy alta si no tienen raíces vivas como alimento, y la tasa de desarrollo de los estadios posteriores es fuertemente reducida (Shannon, datos no publicados). Después del período de alimentación y crecimiento, en especies con ciclo de un año las larvas del tercer estadio se profundizan en el perfil del suelo, forman una celda de suelo donde empupan y mudan a adulto. Permanecen en la celda hasta el inicio de las próximas lluvias. En especies con ciclo de dos años, las larvas forman la celda durante el segundo estadio, pasan la época seca allí, y vuelven a subir a la zona de raíces cuando se inician las lluvias otra vez. Próximamente, mudan al tercer estadio para continuar su alimentación y desarrollo, y vuelven a formar la celda para empupar durante la época seca de su segundo año.

Cuadro 2. Algunas especies usadas comúnmente como alimento por adultos *Phyllophaga* spp. en Costa Rica.

Nombre Común	Nombre Científico	Especie
Poró	<i>Erythrina</i> spp.	<i>P. menetriesi</i>
Malinche	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	<i>P. elenans</i>
Guácimo	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>P. elenans</i> , <i>P. vicina</i>
Jocote	<i>Spondias purpurea</i>	<i>P. elenans</i>
Anona, Guanábana	<i>Anona</i> spp.	<i>P. elenans</i>

En general el ciclo de vida es completado en un año en especies de tierras altas como *P. menetriesi* y *P. obsoleta*, sin embargo en especies como *P. vicina* y *P. elenans* el ciclo biológico puede ser de uno o dos años. Las razones que gobiernan la duración del ciclo aún no son bien entendidas.

5. AVANCES EN CONTROL MICROBIANO

El suelo ofrece condiciones de temperatura, alta humedad y protección contra la luz ultravioleta que deben ser favorables para la acción de agentes microbiales con capacidad para enfermar y matar las larvas de escarabeoides. Los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* (Rath, 1992; Zimmerman, 1992) además de las bacterias *Serratia entomophila* (Jackson *et al.*, 1992) y *Bacillus popilliae* (Klein 1992), han mostrado tener potencial como agentes para uso inundativo en el control de estas plagas.

A partir de 1992 se inició en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) un programa de investigación para buscar y desarrollar cepas de hongos entomopatógenos, activos contra *Phyllophaga* spp. Se decidió *a priori* a favor de los hongos entomopatógenos con base en los antecedentes de éxito en otros países, la facilidad con que se pueden producirlos usando tecnologías sencillas y porque en Costa Rica ya existe experiencia y capacidad para producir inoculo a nivel semi-comercial en la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA). El desafío principal del programa ha resultado ser lo de encontrar cepas de suficiente virulencia para utilizar contra un grupos de plagas sumamente con un alto grado de resistencia a estos hongos.

Durante las primeras etapas se probaron 18 cepas de cada uno de los hongos *Beauveria* spp. y *Metarhizium anisopliae* contra larvas de segundo y tercer estadio de las especies *P. menetriesi* y *P. vicina* y de tercer estadio de *P. obsoleta*. Las cepas evaluadas incluyeron algunas que ya se desarrollan comercialmente para control de escarabaeidos en Nueva Zelanda y Australia, y otros que han resultado altamente virulentos en pruebas experimentales en otros países. Se utilizó una metodología de "prueba máxima" en la cual se aplicaron las dosis más altas posibles a grupos de 12 larvas para identificar rápidamente a las cepas de baja o ninguna virulencia y eliminarlas de futuras evaluaciones. Esto se logró agitando las larvas en conidios (esporas vegetativas) de las cepas cultivadas sobre PDA en platos Petri, de manera que las larvas estuvieron completamente cubiertas de conidios. Aun bajo estas condiciones, los tratamientos con *Beauveria* no causaron mortalidad mientras que *Metarhizium* logró matar, aunque en un bajo porcentaje.

Estos resultados fueron las primeras evidencias que se obtuvieron que posiblemente cepas con alta virulencia contra *Phyllophaga* son poco comunes, y esto fue el motivo para posteriormente realizar un programa de búsqueda para substancialmente aumentar el número de cepas para futuras pruebas. Para lograr esto rápidamente, se utilizó el método de insecto cebo de Zimmerman (1986) que permite aislar hongos entomopatógenos directamente del suelo utilizando larvas de, en este caso, *Galleria melonella* y *Metamasius hemipterus*. De esta manera se obtuvieron 203 nuevos aislamientos de *Metarhizium* y 96 de *Beauveria* provenientes de muestras de suelo colectadas en las diferentes zonas de Costa Rica durante la época seca de 1993.

De acuerdo con los resultados de las primeras pruebas que *Beauveria* no tuvo tanta potencial como *Metarhizium*, durante la próxima etapa se dio prioridad a los aislamientos de *Metarhizium*. De nuevo se usó una prueba máxima para rápidamente evaluar estas nuevas cepas, con la única diferencia que en lugar de aplicar el hongo como cultivo en platos Petri, se produjo el inóculo en arroz y se aplicó por agitación de las larvas en un envase con inóculo sobre arroz como agente inerte. Alrededor de 160 cepas de *Metarhizium* de esta colección, incluyendo varias cepas exóticas fueron probadas contra larvas de segundo y tercer estadio de *P. menetriesi* y *P. vicina* y tercer estadio de *P. obsoleta*. Otra vez se observó que la gran mayoría de las cepas fueron débilmente virulentos o avirulentos. Después de 28 días de la aplicación sólo cuatro aislamientos causaron más de un 50% de mortalidad en dos o más especies: ARE-1, RCP-2, TEP-4 y ARE-2 (Shannon & Hidalgo, 1994).

Posteriormente, en vista de los resultados poco prometedores logrados hasta la fecha, se modificó la estrategia de búsqueda de cepas para a) volver a evaluar la colección de cepas de *Beauveria*, y b) enfocar la búsqueda de nuevas cepas más directamente a larvas de *Phyllophaga*.

Se realizaron bioensayos tipo prueba máxima para los aislamientos de *Beauveria* de la colección que permanecían sin evaluar. Para hacer más rápido el proceso, se usaron mezclas de partes iguales por peso de hongo sobre arroz en "pruebas de grupos" de 10 aislamientos/grupo para *P. menetriesi* segundo estadio y de 5 aislamientos/grupo para el tercer estadio. Los aislamientos en los grupos que dieron alta mortalidad después de 15 días fueron evaluados luego individualmente. Esto permitió identificar dos aislamientos (P0059 y P0084) altamente virulentos contra segundo y tercer estadio de *P. menetriesi*. En pruebas similares con *P. elenans* y *P. obsoleta* no se encontró material de alta virulencia. Pruebas posteriores de cepas monospóricas de la cepa P0084 (preferido sobre la P0059 por su mayor capacidad de esporulación) mostraron un amplio rango de virulencia contra el segundo y tercer estadio de *P. menetriesi*, incluyendo algunas con significativamente mayor virulencia.

En pruebas de virulencia con concentraciones de 10^8 conidios/ml en suspensión acuosa, aplicadas por inmersión de las larvas durante un minuto, el aislamiento P0084 mostró ser notablemente más virulento que el aislado ARE-1 de *Metarhizium*. Los aislados ARE-2, TEP-4, y RCP-2, también seleccionados en años anteriores fueron inferiores a ARE-1 en estas pruebas.

La búsqueda reenfocada para nuevas cepas tuvo tres componentes. En varios sitios con infestaciones de *Phyllophaga* spp. en Pérez Zeledón, en el Ingenio CATSA, Filadelfia, y en el Ingenio 'El Palmar', Puntarenas, con la colaboración de DIECA se hizo un muestreo utilizando arado para remover el suelo. No se encontraron larvas con infección aparente de hongos en el campo, sin embargo algunas larvas llevadas al laboratorio para cría posteriormente desarrollaron infecciones. Excepcionalmente, muchas larvas de *P. obsoleta* sacadas de un campo hortícola en Tierra Blanca, Cartago, tuvieron o desarrollaron infecciones de *M. anisopliae*. Se estima que un 30% de la población de este sitio mostraba infección por el hongo. El segundo componente fue la incubación de larvas de *P. menetriesi* criadas en el laboratorio en muestras de suelo colectados en de 20 sitios con un historial de infestación por esta plaga: larvas criadas en muestras de Zarcero, El Rodeo, Puntarenas y Tierra Blanca murieron infectadas con *Metarhizium*. Para complementar esta actividad, utilizando un medio de cultivo selectivo (Milner & Lutton, 1976) se logró aislar 15 nuevas cepas más de *Metarhizium* directamente de estos suelos. Una selección de estos nuevos aislados fueron evaluados usando "pruebas de grupos" del tipo descrito anteriormente. Se logró seleccionar algunas cepas prometedoras con mayor virulencia contra *P. obsoleta* y *P. elenans* que se evaluarán más detalladamente en futuros ensayos.

Futuras investigaciones evaluarán el comportamiento de los aislamientos ARE-1 y una cepa monospórica del 0084 en una prueba de campo contra *P. menetriesi* en caña de azúcar, y investigación en varias especies para evaluar la potencial de cepas nativas de la bacteria *Bacillus popilliae* como agente controlador. Esta bacteria causa la enfermedad conocida como enfermedad lechosa en las larvas.

6. REFERENCIAS

- Badilla, F., 1996. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. In: Shannon, P. J. & Carballo, M. (eds), 1996. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE/PRIAG. Turrialba, Costa Rica (CATIE Serie Técnica. Informe Técnico). *en prensa*.
- FAOSTAT, 1996. FAOSTAT Agriculture statistics database. http://apps.fao.org/lim500/Agri_db.pl
- Hilje, L., 1994. Notas sobre *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) en papa, en Cartago, Costa Rica. In: Shannon, P. J. & Carballo, M. (eds), 1996. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE/PRIAG. Turrialba, Costa Rica (CATIE Serie Técnica. Informe Técnico). *en prensa*.
- Jackson, T. A., Pearson, J.F. y O'Callaghan, M., 1992. Pathogen to product - Development of *Serratia entomophila* (Enterobacteriaceae) as a commercial biological control agent for the New Zealand grass grub (*Costelytra zealandica*). pp. 191-198 In: Use of pathogens in scarab pest management. Intercept Ltd, Andover. 179p
- King, A.B.S., 1984. Biology and identification of white grubs (*Phyllophaga*) of economic importance in Central America. Tropical Pest Management 30(1): 36-50
- Klein, M.G., 1992. Use of *Bacillus popilliae* in Japanese beetle control. pp.179-189 In: Jackson, T.A. & Glare, T.R. (eds), Use of pathogens in scarab pest management. Andover, U.K., Intercept..
- León, R., 1996. Informe de Costa Rica. In: Shannon, P. J. & Carballo, M. (eds), 1996. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE/PRIAG. Turrialba, Costa Rica (CATIE Serie Técnica. Informe Técnico). *en prensa*.
- Milner, R.J. and Lutton, G.G., 1976. *Metarhizium anisopliae*: survival of conidia in soil. Proceedings of the First International Colloquium of Invertebrate Pathology, Kingston, Canada. pp 428-429.
- Larios, J. y Shannon, P., 1989. In: CENTA-CATIE, 1989. Memoria de Resúmenes Conclusiones y Recomendaciones del Taller Regional de Manejo Integrado de Plagas Insectiles del Suelo con Énfasis en *Phyllophaga*.
- Rath, A.C., 1992. *Metarhizium anisopliae* for Control of the Tasmanian Pasture Scarab *Adoryphorus couloni*. In Jackson, T and Glare, T.R., 1992. Use of pathogens in scarab pest management. Intercept Ltd, Andover. 179pp
- Silveira - Neto, Nakano, S., Barbin, O. y Villanova, N.A., 1972. Manual de Ecología de insectos. Editora Agronómica CERES Ltda, Piracicaba, Sao Paulo - Brasil. 419 p.
- Wall Street Journal Interactive, 1996. Wall Street Journal Interactive Edition, Wednesday, June 5, 1996. <http://interactive3.wsj.com/>
- Zimmermann, G., 1986. The "Galleria bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. Zeitschrift für Angewandte Entomologie, 102: 213-215.