

Hoja TECNICA

No. 37

CATIE



Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp.

Eduardo Hidalgo¹

Introducción

Las larvas de varias especies del género *Phyllophaga* causan daños severos a muchos cultivos en América Central y parte de Sur y Norteamérica. Entre los cultivos afectados están maíz, papa, pastos, hortalizas, granos básicos, algunos cultivos perennes y viveros forestales (King y Saunders 1984). El control de esta plaga se ha dificultado debido a su hábito subterráneo, estacionalidad y patrón de ataque en parches y a que, en la mayoría de los casos, su detección se da cuando el daño al cultivo ya ha ocurrido.

El uso de microorganismos que han coevolucionado con la plaga se perfila como una práctica promisoriosa para su control, especialmente aquellos reconocidos por su capacidad para causar enfermedades crónicas y muerte, tanto a los estadios larvales como a los adultos de *Phyllophaga* spp. Muchos de estos microorganismos han mostrado ser capaces de causar epizootias que mantienen naturalmente controladas las poblaciones de larvas de escarabeidos en el campo. Una de las ventajas del uso de este tipo de agentes de control biológico radica en que, generalmente, son organismos que están adaptados a los mismos hábitats en que se desarrolla la plaga; además tienen la capacidad de autoreproducirse sobre las larvas y adultos, aumentando la concentración de sus propágulos, lo cual ayuda a su establecimiento en el campo. Eventualmente, un microorganismo que se ha esta-

blecido en un sitio con problemas de infestación de *Phyllophaga*, entrará a formar parte de los factores de mortalidad de la plaga que ayudan a mantener las poblaciones en niveles bajos.

Pese a los esfuerzos en la investigación en control biológico de *Phyllophaga*, aún se está en una fase incipiente en lo referente al desarrollo de productos formulados de eficacia aceptable. Sin embargo, se ha demostrado el potencial de algunos microorganismos y la necesidad de usarlos en combinación con otras prácticas que permitan mejorar el control de la plaga.

Metodologías para el uso de microorganismos

Shannon (1996) indica que la categorización convencional de estrategias de control biológico (control clásico, inoculativo e inundativo) no se adapta bien al control con microorganismos porque frecuentemente hay que combinar tácticas de más de una categoría. Debido a que *Phyllophaga* es nativa de América, y sus enemigos naturales han coevolucionado con cada especie, el concepto de control biológico clásico no sería apropiado en este caso, aunque las mismas especies de microorganismos asociados a *Phyllophaga* existen también en otras latitudes y la introducción de nuevas cepas de estos agentes al continente podría tener potencial para su control; no obstante, la experiencia con el hongo *Metarhizium* en *Phyllophaga* spp. ha mostrado que los aislamientos más virulentos provienen de

¹ Unidad de Fitoprotección, CATIE, Costa Rica. Correo electrónico: ehidalgo@catie.ac.cr

zonas infestadas con la plaga, pero no necesariamente de la misma especie (Shannon *et al.* 1993). La mayoría de aislamientos de hongos en otros insectos y aislamientos extranjeros, aún aquellos con alta infectividad en otros escarabeidos, no han mostrado ser efectivos contra *Phyllophaga* spp.

La inoculación controlada de áreas infestadas con el objetivo de iniciar el proceso de infección e inducir epizootias es una estrategia implícita en el uso de la mayoría de los patógenos, pero más marcada en aquellos casos en que el costo del inóculo es elevado. Una alternativa a esta estrategia es la aplicación masiva de inóculo para tener un efecto insecticida. Los productos utilizados con este fin se han denominado micoinsecticidas cuando el ingrediente activo es un hongo o bioplaguicidas como un término más general que incluye a todos los grupos de microorganismos utilizados con este propósito. Para el control de algunos escarabeidos, se han puesto al mercado preparaciones en forma de polvo mojable, gránulos o suspensiones de esporas, aunque mucho del trabajo en control de *Phyllophaga* se ha realizado con formulaciones simples y económicas, como mezclas con talco simple o suspensiones acuosas de esporas o conidios.

Principales patógenos de *Phyllophaga* y otros escarabeidos

Las bacterias formadoras (*Bacillus popilliae*) y no formadoras de esporas (*Serratia entomophila*) así como los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y nematodos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, son los microorganismos que se han estudiado más a fondo por tener mayor potencial para su uso en el control de larvas de escarabeidos. Sin embargo, otros grupos como los virus, rickettsias y protozoarios también llegan a jugar un papel importante en el arsenal biológico que naturalmente contiene las explosiones poblacionales de este tipo de plaga.

Bacterias

Muchas bacterias han sido asociadas a *Phyllophaga* spp. entre ellas *Bacillus cereus*, *Clostridium* sp., *B. laterosporus* (Poprawski y Yule 1990); sin embargo, Klein y Jackson (1992) considera que en la mayoría de los casos éstos podrían ser patógenos facultativos que infectan solamente cuando las larvas están bajo condiciones de estrés. Otros grupos de bacterias considerados como invasores rápidos, incluyen *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Actinobacter*, *Erwinia* y *Serratia*. Pocas

cepas de estas bacterias resultan consistentemente patógenas con inoculaciones orales, aunque para larvas de otra especie de escarabeidos (*Costelytra zealandica*) se han encontrado cepas de *Serratia entomophila* altamente virulentas, con las que se ha llegado a desarrollar un bioplaguicida comercial (Invade).

Recientemente, se han identificado cepas de *Bacillus thuringiensis* activas contra larvas de escarabeidos (Crocker *et al.* 1982) y se considera que pronto podrían salir al mercado productos formulados para el control de estos insectos.

La bacteria más exitosa y estudiada contra larvas de escarabajos, incluyendo *Phyllophaga*, ha sido *B. popilliae*, para la cual se ha confirmado su condición de parásito obligado. Esta bacteria forma esporas muy resistentes a las condiciones adversas del ambiente, que le confieren una ventaja como agente de control biológico. Esta característica también asegura que la bacteria formulada será estable y almacenable por periodos prolongados.

La enfermedad causada por *B. popilliae* es conocida como "enfermedad lechosa" y ocurre solamente en escarabeidos. Las larvas enfermas se reconocen por su color blanco lechoso causado por la proliferación de esporas refractarias en la hemolinfa (Fig. 1). Esto se puede observar a través de la cutícula transparente de los últimos segmentos abdominales. El diagnóstico se puede confirmar perforando la cápsula cefálica con un alfiler, lo que permite que salga una gota de hemolinfa con apariencia de leche en las larvas enfermas o transparente-amarillenta en larvas sanas.

Las larvas se infectan cuando ingieren alimento contaminado con esporas de la bacteria. Las esporas pueden sobrevivir muchos años en el suelo y al entrar al tracto digestivo germinan e infectan a la larva, produciendo alrededor de 5×10^{10} esporas/ml de hemolinfa. La muerte típicamente ocurre al mes o más después de la infección.

B. popilliae ha sido utilizado con éxito, en condiciones de campo con poblaciones altas de larvas del escarabajo japonés *Popillia japonica* (Klein 1992) y en estudios para el control de otras especies determinando que tiene un buen potencial como agente de control biológico. En el CATIE, se mantiene una colección de cepas de *B. popilliae*, colectadas en zonas tropicales y subtropicales, entre las que se han seleccionado algunas altamente promisorias contra al menos dos de las especies de *Phyllophaga* más importantes en América Central.

La principal limitante para el uso de esta bacteria es su reproducción, la cual se debe hacer directamente en la larva debido a su condición de patógeno obligado (Fig. 2). Las investigaciones actuales en CATIE se han centrado en mejorar las metodologías de reproducción y aplicación del inóculo en el campo para disminuir el costo de su uso.

Pese a que existen algunas preparaciones comerciales en el mercado, éstas son bastante específicas para larvas del abejón japonés, *Popillia japonica* y su eficacia para el control de las especies locales de *Phyllophaga* ha resultado baja en pruebas de laboratorio. Sin embargo, la diseminación de cepas nativas de *B. popilliae*, en pequeña escala, es posible utilizando larvas infectadas naturalmente en el campo como fuente de inóculo. Las larvas enfermas pueden ser maceradas en agua para preparar una suspensión de esporas que luego se aplica con equipos convencionales como bombas de espalda o mezclada con talco para su aplicación en polvo. Estimando una producción promedio de $2,5 \times 10^{10}$ esporas / larva (en *P. menetriesi* y *P. elenans*) se requieren 16 larvas por bomba de espalda de 16 L, con lo cual se pueden cubrir 400 m^2 con una dosis equivalente a 1×10^{13} esporas/ha. Las áreas aplicadas pueden ser luego muestreadas para colectar larvas infectadas que servirán para inocular otras áreas infestadas con la plaga.

Hongos entomopatógenos

Varios hongos del grupo de los Deuteromicetos tales como *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Verticillium*, *Akanthomyces*, *Beauveria* y *Metarhizium*, han sido observados infectando larvas de escarabeidos; sin embargo, solamente los dos últimos han sido considerados como agentes con potencial para el desarrollo de un micoinsecticida. Ambos hongos son habitantes normales del suelo y están distribuidos globalmente, causando epizootias esporádicas bajo condiciones naturales.

Al igual que para muchas otras plagas, las diferentes cepas de *Beauveria* y *Metarhizium*, no tienen la misma virulencia contra *Phyllophaga* por lo que es necesario llevar a cabo procesos de selección de aislamientos. Las larvas de *Phyllophaga* han evolucionado en un ambiente en que constantemente están en contacto con una gran variedad de microorganismos, incluyendo hongos entomopatógenos, por lo que han desarrollado resistencia contra la mayoría de ellos, haciendo que las cepas patogénicas de alta virulencia sean poco comunes. Algunos mecanismos de defensa contra la infección por hongos son fácilmente identifi-

cables en el campo. El caso más claro es la acumulación de quitina, formando manchas café oscuro, alrededor de los puntos de la cutícula por donde se ha iniciado la penetración del patógeno (Fig. 3) o la encapsulación del microorganismo cuando ya ha penetrado, formando gránulos pardos o negruzcos en el cuerpo graso de la larva.

Se han reportado cuatro especies de *Beauveria* activas contra escarabeidos: *B. bassiana*, *B. brongniartii* (= *B. tenella* y *B. densa*), *B. amorpha* (= *Isaria amorpha*, e *Isaria orthopterorum*), y *B. vermicornia*. Todas las especies producen abundante micelio blanco sobre el cadáver, en algunos casos extendiéndose a varios centímetros de la larva, produciendo masas de conidios blancos o blanco cremoso (Fig. 4). *B. bassiana* y una posible especie nueva de *Beauveria* ha sido aislada de larvas de *P. obsoleta* en Costa Rica. Pruebas de laboratorio con estas cepas produjeron altos porcentajes de mortalidad en larvas de segundo estadio de *P. menetriesi*; sin embargo, no se obtuvo esporulación, y la mortalidad en larvas de tercer estadio y en otras especies de *Phyllophaga* fue muy baja (Shannon *et al.* 1993).

Metarhizium produce micelio blanco o amarillo y columnas de conidios verdes que se unen formando típicos bloques muy compactos (Fig. 4). Pese a ser un hongo muy abundante en el suelo, las cepas con buena actividad contra *Phyllophaga* son escasas. De acuerdo a pruebas realizadas en el CATIE, de 160 aislamientos evaluados contra *P. menetriesi*, *P. vicina* y *P. obsoleta*, solamente tres infectaron llegando a producir niveles aceptables de infección en dos o más de las especies. Esta experiencia confirma que la selección adecuada del genotipo probablemente sea un factor crítico para el uso de este hongo en el control de *Phyllophaga*.

Otros microorganismos

Nemátodos de las familias Heterorhabditidae y Steinernematidae portan bacterias que son liberadas dentro del hospedante. La multiplicación de estas bacterias, causa la muerte del insecto y a la vez le permite al nematodo completar su ciclo de vida generando nuevos estadios juveniles que saldrán en busca de nuevas presas. Una ventaja de los nematodos es su movilidad, que se traduce en capacidad para buscar las larvas de *Phyllophaga* en el suelo. Existen métodos de producción masiva y formulación de estos organismos que ha permitido la generación de productos comerciales para otras plagas. Pese a que hay muchos resultados pro-



Figura 1. Larva de *Phyllophaga menetriesi* con síntomas de la enfermedad lechosa (Izq) y larva de la misma especie sana (Der).

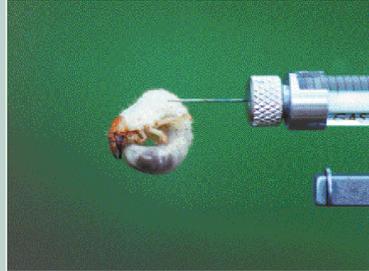


Figura 2. Producción *in vivo* de *B. popilliae* con inoculación de esporas vía inyección.



Figura 3. Mancha parda producida por la larva como respuesta al intento de penetración de un patógeno a través de la cutícula.

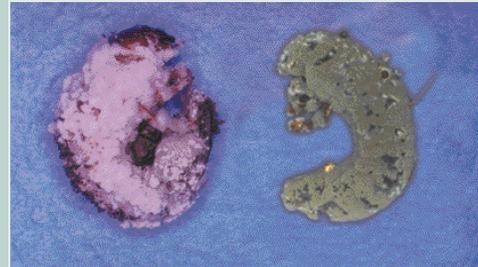


Figura 4. Larva de *Phyllophaga* infectada con *Metarhizium* (Izq) y *Beauveria* (Der).

misorios contra *Phyllophaga* a nivel de laboratorio, su uso en el campo tiene limitaciones biológicas y técnicas que deben superarse.

En CATIE se han recolectado y evaluado muestras nativas de nematodos entomofílicos contra *P. menetriesi* y *P. elenas*, obteniendo porcentajes muy bajos de mortalidad en larvas. Este es un recurso en el cual debe continuarse la investigación para identificar cepas más virulentas.

Algunos **protozoarios**, específicamente de los grupos Microsporidia, Eucoccidiida, Neogregarinida y algunos Eugregarinida, son comúnmente encontrados parasitando larvas de *Phyllophaga* spp. Sin embargo, se conoce poco sobre su ciclo de vida y su verdadero rol en el control de poblaciones de esta plaga.

Se han encontrado algunas **Rickettsias**, principalmente de la especie *Rickettsiella popilliae*, causando enfermedades letales en varias especies de escarabidos. La infección es por ingestión y la muerte puede tardar hasta seis meses en alcanzarse. Pese a que se cree que tienen un papel importante en la dinámica de poblaciones de este grupo de insectos, su uso comercial es incierto debido a que su producción debe hacerse en células vivas y por el peligro que representan

por su condición de patógenos potenciales de vertebrados (Shannon 1996).

Literatura citada

- Crocker, RL; **et al** 1982. Field records of pathogens and parasites of scarabs in Texas. Texas Turfgrass Research 1982: 41-42.
- King, ABS; Saunders, JL. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, UK, TDRI-CATIE/ODA. p.90-93.
- Klein, MG. 1992. Use of *Bacillus popilliae* in Japanese beetle control. In Jacson, TA; Glare, TR. Eds. Use of pathogens in scarab pest management. Andover, Gran Bretaña, Intercept. p. 179-189.
- Klein MG; Jackson, TA. 1992. *Bacterial diseases of scarabs*. In Jacson, TA; Glare, TR. (eds), Use of pathogens in scarab pest management. Andover, Gran Bretaña. Intercept. p. 43-61
- Porprawski, TJ; Yule, WN. 1990. Bacterial pathogens of *Phyllophaga* spp. (Col:Scarabaeidae) in southern Quebec. Journal of Applied Entomology 109:414-422.
- Shannon, PJ; Smith, SM; Hidalgo, E. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp. (Coleoptera:Scarabaeidae). In Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas. Veracruz, México, Sociedad Mexicana de Entomología/ Instituto de Ecología. p.203-215.
- Shannon, PJ. 1996 Control microbiano de *Phyllophaga* spp. (Col: Melolonthidae). In Shannon, PJ; Carballo, M. Eds. Biología y control de *Phyllophaga* spp. CATIE, PRIAG. p. 80-93.