

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA TIERRA DE BARROS

IV Congreso Agroalimentario de Extremadura

CENTRO UNIVERSITARIO SANTA ANA ALMENDRALEJO



Del 3 al 6 de Mayo 2022

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
DE LA TIERRA DE BARROS
IV CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Colabora: Cajalmendralejo

Ilustración de portada:

© ALBERTO CATILLO

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: Virginia Pedrero

ISBN: 978-84-7930-112-0

D.L.:

Imprime: Impresal

Control de la mosca del olivo con hongos entomopatógenos

GARRIDO-JURADO, I.

Unidad de Entomología Agrícola. Departamento de Agronomía. ETSIAM.
Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales 14014 Córdoba.

RESUMEN

Los hongos entomopatógenos (HE) presentan gran potencial para ser utilizados dentro del programa de control integrado de plagas en el olivar por su modo de acción, su fácil producción en masa y aplicación en campo. Trabajos realizados en el seno del grupo de investigación PAIDI AGR 163 "Entomología Agrícola" de la Universidad de Córdoba en los últimos 20 años han constatado: (1) La gran presencia natural de los hongos entomopatógenos de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium* en suelos de olivar de la Península Ibérica, con énfasis en Andalucía, así como la influencia de las prácticas agronómicas sobre la misma; (2) La eficacia de de cepas autóctonas para el control de adultos de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Rossi) (Díptera: Tephritidae) y de larvas próximas a pupación y puparios de la misma en aplicaciones al suelo; (3) La ausencia de impacto negativo de estos tratamientos de suelo en un olivar frente a la fauna auxiliar del mismo; (4) La compatibilidad de estos hongos entomopatógenos con la mayoría de los herbicidas utilizados en suelos de olivar; (5) La ausencia de residuos en el aceite de oliva elaborado con aceitunas tratadas con HE; (8) Efectos beneficiosos sobre la nutrición del olivo y promoción del crecimiento. Estos trabajos han dado como resultados la transferencia de la

cepa EAMa 01/58-Su del hongo *M. brunneum* a la empresa Koppert Biological Systems B.V. mediante un contrato de licencia en exclusiva.

Palabras clave: *Bactrocera oleae*, suelo, adultos, puparios, control biológico, sostenible.

1. INTRODUCCION

Los hongos entomopatógenos (HE) son unos microorganismos capaces de causar enfermedades a los insectos, de hecho se considera que aproximadamente el 80% de ellas tienen a los HE como agentes causales. Estos utilizan a los insectos como hospedantes para desarrollar parte de su ciclo de vida, siendo este el fundamento de los micoinsecticidas, de manera que pueden emplearse para reducir las poblaciones de insectos a niveles que no causen daños económicos a los cultivos. Los HE constituyen en la actualidad una alternativa eficaz a los insecticidas químicos convencionales para el control de plagas, respetuosa con el medioambiente y la salud humana y animal, en definitiva, ajustada a los criterios de la agricultura sostenible.

La mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) es la mayor amenaza para el olivo en toda su área de extensión, porque además de reducir la producción de aceituna de mesa y de almazara, produce pérdidas en la calidad del aceite al incrementar su acidez. Se estima que las pérdidas alcanzadas en algunas variedades de aceite pueden llegar al 80%, e incluso el 100% en aceituna de mesa (Zalom et al., 2003). Los HE presentan un gran potencial para ser utilizados dentro del programa de control integrado de plagas en el olivar por su modo de acción por contacto sin necesidad de ser ingeridos, su fácil producción en masa y aplicación en campo. Trabajos realizados en el seno del grupo de investigación PAIDI AGR 163 "Entomología Agrícola" de la Universidad de Córdoba en los últimos 20 años han constatado los siguientes aspectos relacionados con los HE en el olivar.

2. PRESENCIA NATURAL DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DE LOS GÉNEROS *Beauveria* y *Metarhizium* EN SUELOS DE OLIVAR Y EN EL FILOPLANO DEL OLIVO

Los HE se encuentran de manera natural en casi todos los hábitats donde residen los insectos, pero el suelo es probablemente su medio principal, ya que el 85% de los insectos fitófagos se encuentran en él en algún momento de su ciclo vital (Tremblay, 1994). En el caso de la mosca del olivo, las larvas se alimentan del mesocarpo de la aceituna y cuando alcanzan el final de su desarrollo en otoño, caen al suelo para pupar donde permanecen hasta la siguiente primavera en la que sale el adulto. Se ha detectado la presencia de HE en un 80% de los suelos de olivar de la Península Ibérica e Islas Baleares, donde predomina el género *Beauveria* Vuill. en un 55.0% de las muestras recogidas, seguido del género *Metarhizium* Sorok. en un 20.0% de las mismas (Quesada-Moraga et al., 2007). En torno al 70.0-90.0% de los conidios se encuentran retenidos en la capa superficial del suelo, si bien hay diferencias entre ambas especies, donde *Beauveria* predomina en suelos arcillosos y *Metarhizium* en suelos arenosos, afectando a la disponibilidad de inóculo para infectar a los estados preimaginales pero no a su virulencia (Garrido-Jurado et al., 2011b).

Además de en el suelo, los HE se han encontrado de manera natural en plantas, colonizando la parte aérea de manera epífita sobre el filoplano de las hojas, o de manera endófito en el interior de la planta. La riqueza y la diversidad de estos microorganismos están relacionadas con el grado de manejo del ecosistema, de manera que sus niveles son superiores en olivares ecológicos que en olivares intensivos, además de encontrar un mayor número de cepas en primavera cuando las condiciones ambientales en el filoplano son más favorables (Garrido-Jurado et al., 2015). El empleo de marcadores moleculares ha mostrado que cepas de HE encontradas en el suelo son similares a otras aisladas del filoplano de la planta, lo que podría indicar que las cepas del filoplano podrían proceder de suelo y que han sido transportadas por los insectos hospedantes (Garrido-Jurado et al., 2015).

3. EFICACIA DE CEPAS AUTÓCTONAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE ADULTOS Y ESTADOS PRE-IMAGINALES DE LA MOSCA DEL OLIVO *Bactrocera oleae* (ROSSI) (DIPTERA: Tephritidae) EN APLICACIONES AÉREAS O AL SUELO

Los HE son los únicos microorganismos que actúan por contacto, lo que les confiere una gran ventaja al no tener que ser ingeridos por su hospedante. El conidio se adhiere a la cutícula del insecto, germina y penetra a través de ella para colonizar el interior del cuerpo del insecto hasta causarle la muerte. Tras esta, el hongo sale del cadáver y produce nuevos conidios, que se dispersan y continúan su ciclo de vida en nuevos insectos (Quesada-Moraga y Santiago-Alvarez, 2008). La mortalidad de adultos de *B. oleae* con las cepas EAMa 01/58-Su y EAMb 09/01-Su del HE *Metarhizium brunneum* Petch. fue de 95.2 y 100.0%, y su tiempo letal medio (TL_{50}) de 6.2 y 5.6 días, respectivamente, tras su pulverización con una suspensión de 10^9 conidios por mililitro. Estos TL_{50} les permitiría reducir la población adultos en campo antes de la primera puesta que es el momento crítico de ataque del insecto (Yousef et al., 2014; 2017). Además, los tratamientos de suelo con *M. brunneum* frente a las larvas de tercera edad próximas a pupación de *B. oleae* causaron una mortalidad del 68.3 %, con 38.3 % de ella con crecimiento fúngico y CL_{50} de 1×10^7 conidios por mililitro (Yousef et al., 2013). Estos resultados en laboratorio ya indicaban resultados prometedores en campo que fueron corroborados en ensayos realizados entre los años 2010-2015 donde la población de primavera se redujo entre un 50-70% tras una aplicación con la cepa EAMa 01/58-Su al suelo bajo la copa del olivo en el otoño anterior (Yousef et al., 2017). Incluso las reducciones del 70% de la población de primavera se mantuvieron cuando esas aplicaciones se realizaron en el norte de España bajo otras condiciones climáticas diferentes (Yousef et al., 2018).

Algunas cepas de HE pueden producir otro tipo de esporas, además de los conidios, que son los microesclerocios (MS). Estos son unas estructuras de supervivencia que producen algunos hongos para contrarrestar estreses nutricionales o medioambientales. Consisten en agregados hifales compactados y altamente melanizados, que en un sustrato adecuado pueden esporular y producir conidios para así infectar nuevos hospedantes. Los MS producidos por la cepa EAMa 01/58-Su de *M. brunneum* produjeron una mortalidad del 65.0% de adultos provenientes de pupas enterradas en suelos infectados y de un 25.0% de las pupas cuando se aplicaron 0.3 g

de MS a 10.0 g de suelo con una humedad de 7.3%. Sin embargo, los ensayos realizados en campo no mostraron diferencias con el control, debido probablemente al mayor tamaño de los MS con respecto a los conidios que hace que su distribución sobre la superficie del suelo tratado no sea tan uniforme unido a la casi nula movilidad en el suelo de las larvas de tercer estadio que caen para pupar (Alomari, 2019).

4. IMPACTO DE LOS TRATAMIENTOS DE SUELO CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS FRENTE A LA FAUNA AUXILIAR DEL OLIVAR

La aplicación en campo de la cepa EAMa 01/58-Su no afectó a la arthropofauna del olivar ni en abundancia ni en diversidad, aún manteniendo los niveles de inóculo durante el experimento en torno a 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo, que son 100 veces superiores a los niveles naturales a los que se puede encontrar este hongo en el suelo (Garrido-Jurado et al., 2011a; Scheepmaker y Butt, 2010). Ninguno de los 12000 artrópodos capturados en trampas de caída mostraron crecimiento fúngico externo tras ponerlos en condiciones adecuadas de temperatura y humedad (Garrido-Jurado et al., 2011a). Además, tratamientos realizados sobre *Tapinoma nigerrimum* Nylander (Hymenoptera: Formicidae) revelaron que no se produjo ningún efecto sobre las hormigas de esta especie de abundancia en el olivar y bioindicador del mismo. Tanto la mortalidad como los tiempos medios de supervivencia no difirieron del control, y la actividad del hormiguero antes y después de la aplicación del hongo fueron similares. Este estudio también mostró que esta especie no dispersaba el inóculo, lo que favorece la aplicación localizada que se pretende con estos micoinsecticidas en campo (Garrido-Jurado et al., 2011a).

Además, la cepa EAMa 01/58-Su ha mostrado ser segura para el parasitoides de *B. oleae* *Psytalia concolor* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae). La mortalidad de este fue de 21.6% al aplicar suspensiones de 10^8 conidios por mililitro con solo el 13.3 % de los cadáveres con crecimiento fúngico (Yousef et al., 2018).

5. COMPATIBILIDAD DE ESTOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS CON LOS HERBICIDAS UTILIZADOS EN SUELOS DE OLIVAR

Para que el empleo de HE se convierta en una alternativa en la agricultura actual, estos deben ser compatibles con el resto de las prácticas agrícolas, como la aplicación conjunta con diferentes productos fitosanitarios. Esta práctica es muy común para la mayoría de los cultivos porque reduce los costes, la compactación del suelo y las visitas a la explotación (Ravensberg, 2011). La cepa EAMa 01/58-Su de *M. brunneum* es compatible con algunos de los herbicidas de pre y post emergencia autorizados en el olivar. Si bien, la mejor combinación fue con oxifluorfen al 24 %. Esta combinación produjo un mayor crecimiento fúngico en placa, una mayor mortalidad de pupas, y un mayor número de conidios viables en el suelo después del tratamiento (Yousef et al., 2015).

6. USENCIA DE RESIDUOS EN EL ACEITE DE OLIVA ELABORADO CON ACEITUNAS TRATADAS CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Dentro de los grandes retos de la agricultura actual se encuentra la suficiente producción de alimentos para atender las necesidades de una población que alcanzará los 10400 millones de habitantes en 2100, y garantizar su seguridad alimentaria para mejorar la salud y el bienestar humano (UN, 2022). Tanto si se recrea el peor escenario de las aplicaciones fúngicas en el olivar, en las que las aceitunas reciben directamente al HE, o el escenario real, en el que las aceitunas caen en un suelo tratado con el HE, el aceite obtenido de aceitunas recogidas en ambos escenarios se encuentra libre de inóculo y por tanto es seguro para su consumo (Yousef et al., 2018).

7. EFECTOS BENEFICIOSOS SOBRE LA NUTRICIÓN DEL OLIVO Y PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO

La HE presentes en la rizosfera como microorganismos competentes facilita la transferencia de nutrientes a las plantas como el hierro o el nitrógeno, que puede producir en ellas una promoción del crecimiento además de aportar nuevas ventajas en su respuesta a estreses bióticos o abióticos (Behie y Bidochka, 2014; Quesada-Moraga, 2020; García-Espinoza et al., 2023). De hecho, la rizosfera puede ser un buen punto de partida para la coloniza-

ción endofítica de la planta por los HE a través de las raíces (Quesada-Moraga et al., 2019, 2020; Resquín-Romero et al., 2016). Estudios recientes han mostrado que la cepa EAMa 01/58-Su puede colonizar las raíces de olivo de las variedades manzanilla y picual aunque en cantidades muy pequeñas (8.13×10^{-3} y 6.92×10^{-3} ng/g raíz, respectivamente) tras aplicaciones al suelo en plantones de olivo (Romero-Conde et al., 2022). Estos plantones crecidos en suelos tratados han mostrado un incremento en el grosor del tronco, longitud y número de ramas secundarias, biomasa y nutrientes. Además, se ha observado inducción de resistencia en dichos plantas tras la colonización del HE como mecanismo indirecto de protección de la planta, mediante la activación de las rutas del ácido jasmónico, ácido salicílico y etileno (Romero-Conde et al., 2022).

8. CONCLUSIÓN

El uso de hongos entomopatógenos para el control de *Bactrocera oleae* es una herramienta eficaz para ser utilizada dentro de un programa de control integrado de la mosca del olivo tanto en cultivo integrado como ecológico. Los trabajos desarrollados por el grupo de investigación AGR163 "Entomología Agrícola" con la cepa EAMa 01/58-Su de *Metarhizium brunneum* para el control de la mosca del olivo con HE mediante aplicaciones al suelo bajo la copa del olivo han llevado a la transferencia de la cepa a la empresa Koppert Biological Systems B.V. mediante un contrato de licencia en exclusiva para su registro, producción y comercialización.

9. BIBLIOGRAFÍA

- ALOMARI, H.Y.N. (2019). “Evaluación del potencial de los microesclerocios producidos por el hongo entomopatógeno *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae) para el control de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera: Tephritidae)”. Tesis de Máster en Olivicultura y Elaiotecnia. Universidad de Córdoba.
- BEHIE, S.W., BIDOCHKA, M.J. (2014). Nutrient transfer in plant-fungal symbioses. *Trends in Plant Science*, 19, 734-740.
- GARCÍA-ESPINOZA, F., QUESADA-MORAGA, E., GARCÍA DEL ROSAL, M.J., YOUSEF-YOUSEF, M. (2023). Entomopathogenic fungi-mediated solubilization and induction of Fe related genes in melon and cucumber plants. *Journal of Fungi*, 9, 258-274.
- GARRIDO-JURADO, I., RUANO, F., CAMPOS, M., QUESADA-MORAGA, E. (2011a). Effects of soil treatments with entomopathogenic fungi on soil dwelling non-target arthropods at a commercial olive orchard. *Biological Control*, 59, 239-244.
- GARRIDO-JURADO, I., TORRENT, J., BARRÓN, V., CORPAS, A. (2011b). Soil properties affect the availability, movement, and virulence of entomopathogenic fungi conidia against puparia of *Ceratitis capitata* (Diptera; Tephritidae). *Biological Control*, 58, 277-285.
- GARRIDO-JURADO, I., FERNÁNDEZ-BRAVO, M., CAMPOS, C., QUESADA-MORAGA, E. (2015). Diversity of entomopathogenic Hypocreales in soil and phylloplanes of five Mediterranean cropping systems. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130, 97-106.
- QUESADA-MORAGA, E., NAVAS-CORTÉS, J.A., MARANHÃO, E.A., ORTIZ-URQUIZA, A., SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. (2007). Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 111, 947-966.
- QUESADA-MORAGA, E., SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. (2008). “Hongos Entomopatógenos”. “En Control biológico de plagas”. Phytoma España, pp. 98-120.
- QUESADA-MORAGA, E. (2020). Entomopathogenic fungi as endophytes: their broader contribution to IPM and crop production. *Biocontrol Science and Technology*, 30, 864-877.

- QUESADA-MORAGA, E., SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, A., GARRIDO-JURADO, I. (2019). Hongos patógenos de insectos como endófitos. En “*Micopatología de artrópodos: hongos entomopatógenos para ser usados como bioinsumos en el control microbiano de plagas*”. Ediciones INTA, Argentina, pp. 151-166.
- RAVENSBERG, W.J. (2011). A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods. *Springer Science & Business Media*. 10, 59-127.
- RESQUÍN-ROMERO, G., GARRIDO-JURADO, I., DELSO, C., RÍOS-MORENO, A., QUESADA-MORAGA, E. (2016). Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects. *Journal of invertebrate pathology*, 136, 23-31.
- ROMERO-CONDE, A., YOUSEF-YOUSEF, M., BENAZZEDDINE, S.A., QUESADA-MORAGA, E., GARRIDO-JURADO, I. (2022). Los tratamientos al suelo con *Metarhizium brunneum* Petch. (Ascomycota: Hypocreales) para el control de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) mejoran el estado nutricional del olivo. XII Congreso Nacional de Entomología Aplicada, Málaga. pp. 57.
- SCHEEPMAKER, J.W.A., BUTT, T.M. (2010). Natural and released inoculum levels of entomopathogenic fungal biocontrol agents in soil in relation to risk assessment and in accordance with EU regulations. *Biocontrol Science and Technology*, 20, 503-552.
- TREMBLAY, E. (1994). *Entomologia applicata*. Liguori Editore. Nápoles.
- U.N. (2022). United Nations, World Population Prospects: The 2022 Revision of World Population Prospects. Disponible online: <http://esa.un.org/unpd/wpp/index.htm> (Consulta realizada el 6 de marzo de 2023).
- YOUSEF, M., LOZANO-TOVAR, M.D., GARRIDO-JURADO, I., QUESADA-MORAGA, E. (2013). Biocontrol of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) with *Metarhizium brunneum* and its extracts. *Journal of Economic Entomology*, 106, 1118-1125.
- YOUSEF, M., GARRIDO-JURADO, I., QUESADA-MORAGA, E. (2014). One *Metarhizium brunneum* strain, two uses to control *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 107, 1736-1744.

- YOUSEF, M., QUESADA-MORAGA, E., GARRIDO-JURADO, I. (2015). Compatibility of herbicides used in olive orchards with a *Metarhizium brunneum* strain used for the control of preimaginal stages of tephritids in the soil. *Journal of Pest Science*, 88, 605-612.
- YOUSEF, M., GARRIDO-JURADO, I., RUÍZ-TORRES, M., QUESADA-MORAGA, E. (2017). Reduction of adult olive fruit fly populations by targeting preimaginals in the soil with the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum*. *Journal of Pest Science*, 90, 345-354.
- YOUSEF, M., ALBA-RAMÍREZ, C., GARRIDO-JURADO, I., MATEU, J., RAYA-DÍAZ, S., VALVERDE-GARCÍA, P., QUESADA-MORAGA, E. (2018). *Metarhizium brunneum* (Ascomycota; Hypocreales) treatments targeting olive fly in the soil for sustainable crop production. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-11.
- ZALOM, F.G., VAN STEENWYK, R.A., BURRACK, H.J., JOHNSON, M.W. (2003). Olive fruit fly (integrated pest management for home gardeners and landscape professionals). Pest Notes, University of California. *Agriculture and Natural Resources*, 74112.