



Persistencia en el suelo del hongo *Metarhizium brunneum* EAMb 09/01–Su: un producto en desarrollo para el control biológico de la mosca del olivo.

C. Sant, I. Hernández y C. Fernández

Introducción

La mosca del olivo (*Bractocera oleae*) es la plaga más importante del olivo. Esta mosca deposita sus huevos en las olivas y las larvas se alimentan de la pulpa causando graves pérdidas en términos de cantidad –la larva consume parte de la pulpa y puede causar la caída del fruto– y calidad –la presencia de las larvas y sus efectos en la oliva incrementan la acidez y disminuyen la capacidad de conservación del aceite. Además, la picada de la mosca puede ser la puerta de entrada de otros patógenos, principalmente hongos, con los consecuentes daños secundarios. En el proyecto INNOLIVAR*, Futureco Bioscience desarrolla un producto bioinsecticida a base del hongo entomopatógeno *Metarhizium brunneum* cepa EAMb 09/01–Su para controlar esta plaga.

La eficacia es el principal factor a tener en cuenta a la hora de comercializar un producto fitosanitario, pero no el único. La persistencia en los diferentes compartimentos ambientales (suelo, planta, aguas superficiales y subterráneas, etc.) también es un factor importante ya que determina en gran medida el impacto ambiental del producto y, en ocasiones, también su eficacia. Determinar la persistencia de los productos en el suelo es especialmente importante en el caso de aquellos que van dirigidos a patógenos que desarrollan parte de su ciclo vital en el suelo como es el caso de la mosca del olivo, cuyas pupas crecen íntegramente bajo tierra.

El objetivo de esta fase del proyecto INNOLIVAR es desarrollar un método de detección de la cepa EAMb 09/01–Su en muestras de suelo y aplicarlo en ensayos de eficacia en campo.

Materiales y Métodos

Para monitorizar la persistencia de la cepa EAMb 09/01–Su en Futureco Bioscience hemos desarrollado un método de PCR cuantitativa en tiempo real en el que se cuantifican simultáneamente 3 secuencias de ADN específicas de la cepa. Para desarrollar este método se secuenció el genoma del hongo y se aplicó la aproximación descrita anteriormente por nuestros investigadores para bacterias (Hernández et al 2020; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00208>).

El método se utilizó en dos ensayos paralelos de eficacia en campo, uno en Mont-roig del Camp (Tarragona) y otro en Avinyonet del Penedès (Barcelona). En ambos ensayos se evaluaron prototipos de la cepa EAMb 09/01–Su en diferentes formatos de formulación [aceite dispersable (OD), polvo mojable (WP) y microesclerocios (MS)]. Los prototipos se aplicaron directamente al suelo en dos momentos del cultivo: uno a finales de noviembre, cuando las moscas están en forma de pupa en el suelo, y otro a principios de febrero, en anticipación a la emergencia de los adultos.

Resultados y Discusión

Aunque algunos de los valores presentados (Figura 1) están por debajo de los LOQ (y por tanto no son cuantificables con este método), los valores obtenidos fueron mayoritariamente consistentes comparando los 3 marcadores entre sí, confirmando la robustez de la metodología a pesar de la problemática en la cuantificación absoluta, sobre todo en las parcelas tratadas con MS (Figura 1).

Las poblaciones del hongo pasaron de estar por debajo de los límites de cuantificación (LOQ) antes de la primera aplicación, a niveles detectables después de ésta (Figura 1), en ambos ensayos. Este resultado es el esperable ya que *M. anisopliae* EAMb 09/01–Su es una cepa aloctona y el método es específico para esta cepa.



Para más información contactar a info@futurecobioscience.com
Futureco Bioscience SA,
Avenida del Cadí 19-23
Sant Pere Molanta 08799
Olèrdola (Barcelona)
España

www.futurecobioscience.com

Good for your crops, good for the environment

Tras la segunda aplicación también se observó un incremento en los niveles del hongo, que fue más rápido en el sustrato de Barcelona (Figura 1). Por otro lado, las oscilaciones observadas no se correspondieron con otros tratamientos adicionales aplicados por el agricultor –correctores de carencias nutricionales (N y B), herbicidas y fungicidas sistémicos.

El formulado OD mantuvo unos niveles más elevados del hongo a lo largo de los aproximadamente 200 días que duraron ambos ensayos. El formulado WP mostró un comportamiento parecido al OD, aunque las diferencias fueron notorias en el ensayo de Barcelona. tras la segunda aplicación. Finalmente, el formulado MS mostró resultados muy variables en el ensayo de Tarragona, posiblemente debido a las dificultades metodológicas que entraña la cuantificación de DNA en MS. No obstante, se observa un incremento de hasta 7 órdenes de magnitud con la llegada de la primavera, y hay una correlación positiva entre los niveles del hongo y la temperatura mínima diaria ($r^2 = 0.726$; $P < 0.05$), lo que sugiere que los niveles del hongo en las parcelas tratadas con MS dependen en gran medida de las condiciones climáticas. Este comportamiento concordaría con la función biológica de los MS, que son formas de resistencia compuestas por hifas condensadas que se desarrollan y esporulan cuando las condiciones ambientales son las adecuadas.

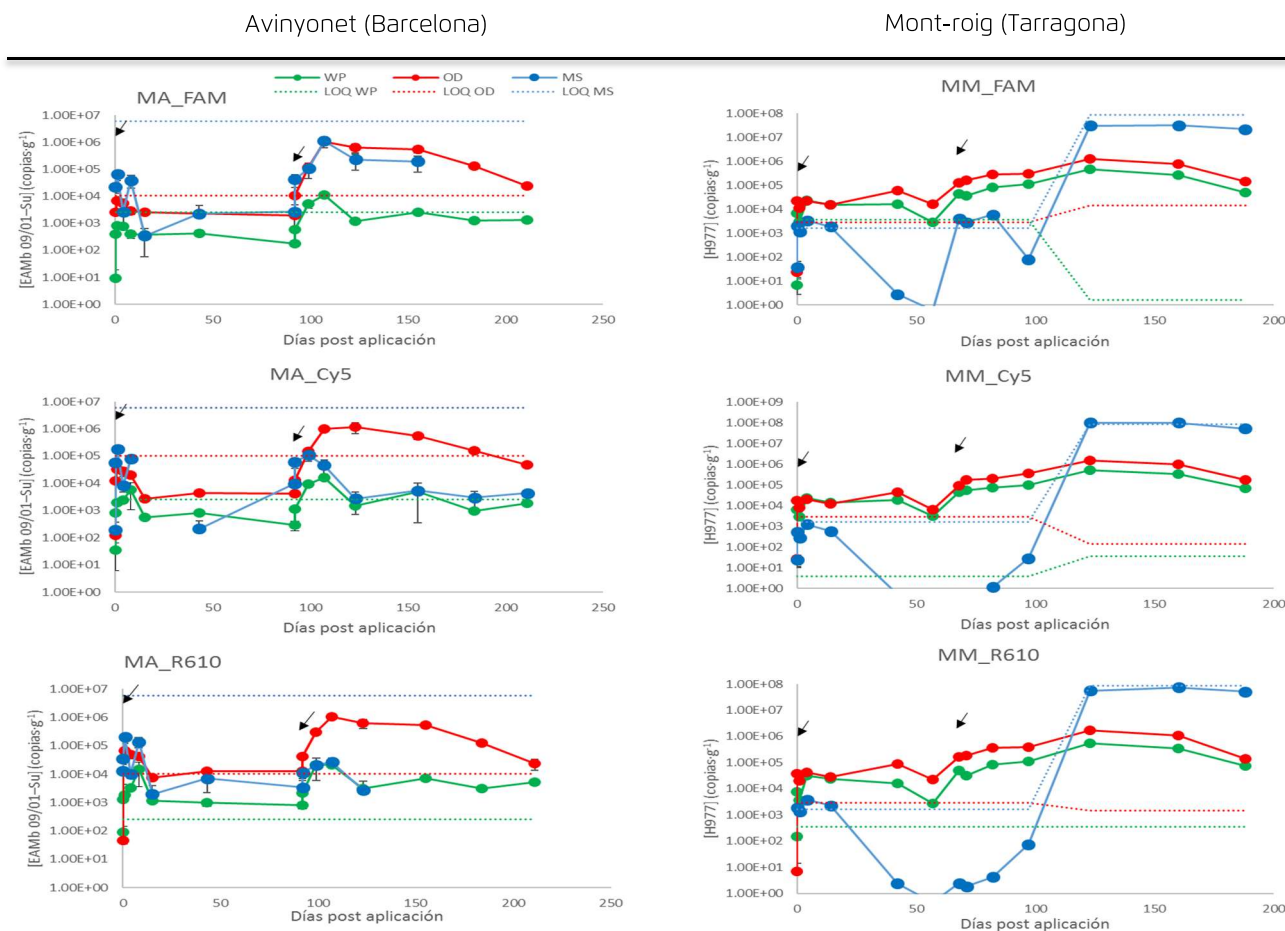


Figura 1. Cuantificación de los niveles de *Metarhizium brunneum* cepa EAMb 09/01–Su en las muestras de suelo de parcelas comerciales de olivo tratadas con prototipos de formulaciones OD (aceite dispersable), WP (polvo mojable) y MS (microesclerocios) en campos experimentales de Avinyonet del Penedès (Barcelona; MA) y Mont-roig del Camp (Taragona; MM). Cada panel muestra los valores para uno de los tres marcadores analizados (FAM, Cy5 y R610). Las flechas indican los momentos de aplicación de los productos. LOQ, límite de cuantificación estimado a partir de las rectas de calibración para cada marcador molecular y tratamiento.

Conclusiones

- El método descrito permite determinar la persistencia de la cepa EAMb 09/01–Su de *Metarhizium brunneum* en suelos agrícolas.
- El hongo en formulados WP y OD puede persistir más de 200 días
- Los formulados OD y WP muestran dinámicas de persistencia parecidas, aunque el formulado OD ofrece persistencias consistentemente mayores, sobre todo en el ensayo en Avinyonet del Penedès.
- Los niveles del hongo en parcelas tratadas con el formulado MS son muy dinámicos. Este fenómeno puede ser debido en parte por limitaciones metodológicas, pero muestra una correlación significativa con las condiciones ambientales (temperatura).

* Proyecto Innolivar: En 2019 se formalizó un contrato de compra pública de innovación en su modalidad pre-comercial entre la empresa Futureco Bioscience SA y la Universidad de Córdoba (UCO), de acuerdo con lo establecido en el convenio entre el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y la UCO, cofinanciado con fondos FEDER.