

Resumen

Tras más de 60 años de aplicación continuada y repetida de un número reducido de materias activas insecticidas para el control de la mosca del olivo, este temible díptero, que es el principal factor biótico de reducción de la calidad del aceite de oliva, aún causa enormes pérdidas en el sector oleícola. En la actualidad, se promulga en el seno de la UE la búsqueda de nuevos métodos de control de plagas que se ajusten a los criterios de sostenibilidad, aspecto crucial en el caso de la mosca del olivo, debido a la alarmante ausencia de alternativas a los insecticidas químicos de síntesis. El grupo P IDI GR 163 “Entomolog gr ol ” de l Universidad de Córdoba ha desarrollado un método de control del teñido eficaz, viable económicamente, y respetuoso con el medio ambiente basado en aplicaciones al suelo debajo de la copa del árbol de la cepa EAMa 01/58-Su del hongo *Metarhizium brunneum* dirigidas a larvas de tercer estadio de *B. oleae* en otoño, cuando saltan al mismo para pupar, lo que permite reducir la generación de la mosca en la primavera siguiente entre el 50 al 70%. La eficacia del método se comprobó en el campo durante varias campañas agrícolas tanto en el sur como en el norte de España, además de su seguridad alimentaria y ambiental. Cabe destacar que todos los trabajos anteriores se realizaron usando conidios asexuales de la cepa EAMa 01/58-Su del hongo *M. brunneum*. Sin embargo, en el presente trabajo de investigación se pretende evaluar la eficacia de los microesclerocios (MS) de la misma cepa para el control de la mosca del olivo. Los MS se consideran una estructura de supervivencia producida por varios hongos para contrarrestar condiciones nutricionales o medioambientales adversas. Varias especies de *Metarhizium* son capaces de producir MS en matraces y fermentadores, entre ellas la cepa EAMa 01/58-Su de *M. brunneum*. Este estudio pretende explorar el efecto de factores abióticos como el tipo de suelo, la temperatura, la humedad y la radiación ultravioleta-B (UV-B) sobre formulaciones granulares (producto experimental) de los MS de la cepa EAMa 01/58-Su producidos *in vitro*, con el objetivo de producir conidios después de su aplicación al suelo para el control de la mosca del olivo. Además, comprobar la eficacia de estas formulaciones para el control de la mosca del olivo tanto a nivel del laboratorio como a nivel del campo. Finalmente, el estudio de los posibles efectos secundarios positivos en la planta del olivo como consecuencia de las aplicaciones al suelo de los MS.

La producción de conidios por parte de los MS de la cepa EAMa 01/58-Su guardó relación directa con la temperatura y humedad de suelo siendo 22.7°C y 7.28% la mejor combinación de temperatura y humedad de suelo, respectivamente, para la producción de los conidios, con una producción de 1.4×10^8 conidio por g de producto experimental. Sin embargo, los MS resultaron ser resistentes a la radiación UV-B, ya que el tiempo de exposición a la radiación UV-B (1.200 mWm⁻²) no tuvo efecto significativo sobre la capacidad de los MS a producir conidios. A nivel del laboratorio, las aplicaciones de MS al suelo para el control de la mosca del olivo demostraron ser más eficaces en dosis bajas que en dosis altas debido a la falta de humedad y poca esporulación de los MS. Por otro lado, el tratamiento de suelo realizado en otoño en el sur de España (Jaén) no redujo significativamente la densidad de la población de adultos de la mosca del olivo procedentes del suelo tratado comparado con el control durante primavera (19.6 y 23.2 adultos por trampa y día, respectivamente). Si bien se ha detectado el hongo en el suelo después del tratamiento, el número de unidades formadoras de colonias fue en general muy bajo, debido a la falta de precipitación y la mala distribución de los MS sobre la superficie del suelo. En cuanto a su efecto sobre el crecimiento de la planta del olivo, las aplicaciones de MS al suelo tuvieron un efecto positivo tanto sobre altura de plantas (3 a 6 cm más que control) como el número de ramas (3.30 y 3.10 ramas respectivamente en tratamiento y control). Además, el tratamiento *M. brunneum* aplicado al suelo en forma de MS ha modificado las concentraciones y equilibrios nutricionales de las plantas de forma positiva manteniendo dichas concentraciones dentro de los rangos normales en la mayoría de los casos. Se observó un aumento global de N, K, y Ca en plantas tratadas con *M. brunneum* comparadas con las plantas control. Además, de una mejoría del exceso de Cu en comparación con el control y del valor de Desequilibrio Nutricional de Macronutrientes. A

esto se añade el efecto positivo del tratamiento de *M. brunneum* sobre el nivel NPK llevándolo a su rango normal comparado con el control. Este trabajo pone de manifiesto una serie de desventajas que tiene el producto experimental en su formato actual y sugiere mejoras en la formulación para poder conseguir la eficacia esperada y conseguida previamente. Por otro lado, arroja luz sobre los efectos positivos derivados de estas aplicaciones para la nutrición el equilibrio nutricional de la planta del olivo.

Palabras clave: puparios, control biológico, control microbiano, aplicaciones de suelo, factores ambientales, micro y macro nutrientes, micorrizas.

After more than 60 years of repeated and continuous applications of chemical insecticides for olive fruit fly control, this monophagous species is still representing the greatest biotic threat to the crop reducing the olive oil production and quality. Nowadays, there is increasing concern over dependence on chemical pesticides for olive fly *Bactrocera oleae* Rossi control, and a global trend to find new methods for its management. The progress of olive fly control programs achieved in recent years consisted of exploit bioinsecticides, with emphasis in those developed with base in entomopathogenic organisms, particularly entomopathogenic fungi. We previously developed a biological, efficient, economically viable, and environmentally friendly method to control the olive fruit fly using the EAMa 01/58-Su strain of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* Petch. as a soil treatment targeting third-instar *B. oleae* larvae that leave the olive fruit to pupate in the soil from mid-autumn onwards. For more than five seasons, a 50–70% reduction of adult olive fruit fly populations was observed in the treated plots compared with the untreated ones both in the North and South of Spain. Furthermore, the food and environmental safety of the method was also previously demonstrated. We should point out that all the previous investigations were performed using the EAMa 01/58-Su conidia. However, the main objective of the present work was to evaluate the efficacy of EAMa 01/58-Su Microsclerotia (MS) to control *B. oleae*. Many *Metarhizium* species, including EAMa 01/58-Su of *M. brunneum*, have the capacity to produce MS. This study explores the effects of abiotic factors, moisture, temperature and UV-B, on the experimental preparations of *M. brunneum* strain EAMa 01/58-Su consisting of granule formulations made using in vitro produced MS, which are intended to produce infective conidial spores after soil application to control olive fruit fly. In addition, to assessing the efficacy of this MS for *B. oleae* control under both laboratory and field conditions. The final purpose of this study was to identify the possible secondary positive effects of the soil application of MS on plant growth. Both temperature and soil moisture had an effect on the conidia production by the MS, and the optimal combination of temperature and soil moisture was 22.7°C and 7.28%, respectively, with a 1.4×10^8 conidia/g of experimental preparation. However, the experimental preparation has shown to be quite photo resistant, with no effect of the UV-B on their capacity to produce conidia. At laboratory, soil application of MS preparations were effective to control *B. oleae* at low doses rather than high ones due to the lack of humidity in the soil and the consequent low sporulation of MS. At field conditions, soil applications of this experimental preparation had two fails, the lack of precipitation and scarce distribution on the soil surface, which led to relatively low effect of this application on the *B. oleae* population density that emerged from treated soil compared to the control (19.6 y 23.2 adults per trap and day, respectively). Even though the fungus was detected in the soil after treatment, the number of Colony Forming Units (CFU) was quite low (1.5×10^5 CFU one month after treatment). Soil application of the experimental preparations of the EAMa 01/58-Su MS had positive effects on the plant growth, both plant height (3-6 cm longer) and branches (3.30 branches compared with 3.10 branches in the control) were higher in treated plants. Furthermore, soil application of experimental preparation of MS enhanced nutritional balance of olive plants. We observed a general increase of N, K and Ca in treated olive plants with alleviation of Cu excess and the nutritional imbalance of macronutrients.

The present work highlights a number of disadvantages of the experimental product in its present form and suggests further improvements of the formulation, especially to reduce the size of the product particles. However, the current work shed light on the positive effects derived from these soil applications on olive plants.

Key words: puparia, biological control, microbial control, soil applications, abiotic factors, micro and macronutrients, mycorrhiza.