Estudio Preliminar de la Capacidad de Dos Especies de Áfidos para Transmitir el Virus del Mosaico de la Calabaza (SqMV) en melón Bajo Condiciones de Invernadero e Identificación de sus Enemigos Naturales.

Jorge R. Paredes (1, 2) Myriam Arias de López (2,3) Lisbeth Espinoza (1) Esther L. Peralta (1)
(1) Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
(2)Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la producción
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral. Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
(3)Departamento de Protección Vegetal, Área de Entomología
Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
Km 26 Vía Durán-Tambo, Parroquia Virgen de Fátima, Cantón Yaguachi. Apartado 09-01-7069. Guayaquil-Ecuador
jorrpare@espol.edu.ec (1,2) marias@espol.edu.ec (2, 3)

Resumen

Se estudió de forma preliminar la capacidad de dos especies de pulgones para transmitir el virus del mosaico de la calabaza (SqMV) y se identificaron sus enemigos naturales. El estudio se realizó en las localidades de Pedro Carbo, Virgen de Fátima y Pechiche. Se corroboró la identidad del virus mediante la prueba de ELISA-DAS y se mantuvo la fuente de inóculo en plantas de Cucumis melo y Cucurbita pepo. Para la identificación de los pulgones se observaron estructuras de la cabeza, corniculos y cauda y se instalaron colonias de Aphis gossypii sobre plantas de melón y de Myzus persicae sobre pimiento. Para los ensayos de transmisión se emplearon cinco minutos en los periodos de adquisición e inoculación, previo a una hora de ayuno. La identificación de los enemigos naturales se realizó utilizando bases de datos y colecciones sinópticas internacionales. Se comprobó la presencia del virus del mosaico de la calabaza en las zonas de Pedro Carbo y Pechiche; además, en los ensayos preliminares realizados, la transmisión con A. gossypii resultó positiva en un porcentaje de 10, 84% ± 0,031, no así con M. persicae. La transmisión en los controles fue nula. Se identificaron 12 depredadores, un parasitoide y dos entomopatógenos; se destaca la infección de pulgones por Nomuraea rileyi –hospederos que se reportan por primera vez-.

Palabras Claves: áfidos, virus del mosaico de la calabaza, Aphis gossypii, Myzus persicae, transmisión viral, enemigos naturales.

Abstract

The ability of two aphid species to transmit Squash Mosaic Virus *was studied and the identity of aphid's natural* enemies was determined. The research was carried out in Pedro Crabo, Virgen de Fátima and Pechiche. The virus identity was determined by using the DAS-ELISA test and the viral source was preserved in Cucumis melo and Cucurbita pepo plants. In the aphids identification; structures of head, cauda and siphunculus were observed; A. gossypii colonies were raised on melon and Myzus persicae on cucumber. In the transmission test, the acquisition access period and the inoculation access period were of five minutes, prior to the AAP and IAP, aphids were starved for one hour. The identification of the natural enemies was possible by using international databases and synoptic collections. Squash Mosaic Virus (SqMV) was identified on melon in Pedro Carbo and Pechiche sectors; Furthermore, A. gossypii was able to transmit the virus at 10.84% ± 0.031, not so, M. persicae. Twelve predators, one parasitoid and two entomopathogenic fungus were identified; the infection of A. gossypii by Nomuraea rileyi is emphasized due to these sorts of hosts is being first reported on this work.

Keywords: Aphids, Squash Mosaic Virus, Aphis gossypii, Myzus persicae, virus transmission, natural enemies.

1. Introducción

La producción del melón representa un rubro importante en la economía ecuatoriana debido a que los frutos son exportados, principalmente a Europa y Estados Unidos. En las últimas dos décadas la producción se ha incrementado de 25000 Mg a más de 40000 Mg [1], de lo producido, solo el 23 % está destinado a la exportación, a pesar del incremento de la demanda internacional [2,3].

Una de las principales limitantes para la producción de melón en el Ecuador es el ataque de enfermedades virales han ocasionado pérdidas superiores a los ocho millones de dólares [4]. Adicionalmente, el brote de enfermedades virales no reportadas en el país, representa un grave riesgo en la producción de este cultivo. debido al desconocimiento de sus formas de diseminación y las medidas de control que deban aplicarse por parte de técnicos y productores.

El virus del mosaico de la calabaza (SqMV) es una enfermedad viral emergente en cultivares comerciales de cucurbitáceas en el Ecuador; fue considerado plaga cuarentenaria no presente en el país [5] hasta que Espinoza et al [6] lo reportó por primera vez en cultivos de melón en la provincia del Guayas.

La mayoría de las virosis vegetales dependen de organismos vectores -insectos, ácaros, nematodos, hongos- para su transmisión y supervivencia. Los insectos son los principales vectores y, dentro de ellos, los áfidos son los responsables de la transmisión del 50% de los virus transmitidos por artrópodos [7, 8].

Recientemente el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE-ESPOL) ha diagnosticado brotes del virus del mosaico de la calabaza en localidades como Pedro Carbo (Guayas), Virgen de Fátima (Guayas) y Pechiche (Santa Elena). La ausencia de sus insectos vectores reportados internacionalmente –Acalymma sp., Diabrotica sp. y/o Epilachna sp.- y las bajas tasas de transmisión por semilla (10%) [9], no justifican los altos porcentajes de incidencia observados en campo y confirmados en laboratorio [6]. Por otra parte, las investigaciones realizadas en el mencionado centro confirman que en los muestreos de insectos con aptitudes potenciales para transmitir virus -como la posesión de un aparato bucal chupador-, destacan los pulgones (Hemíptera: Aphididae). Actualmente no existen registros de la transmisión del virus del mosaico de la calabaza por insectos de esta familia, por lo que se planteó el desarrollo de esta investigación, que tiene como objetivo estudiar de forma preliminar la capacidad de dos especies de áfidos para transmitir el virus del mosaico de la calabaza (SqMV) bajo condiciones de invernadero e identificar sus principales enemigos naturales.

2. Materiales y Métodos.

2.1 Muestreo en campo.

Se muestrearon partes de plantas con síntomas del virus del mosaico de la calabaza, pulgones y enemigos naturales en localidades de las provincias de Guayas y Santa Elena (Fig.1). Las muestras foliares se colectaron mediante muestreo dirigido en bolsas de papel Kraft mantenidas en refrigeración; se colectaron colonias de pulgones en frascos de vidrio cubierto con malla entomológica (Nylon Jordan®). Para la colección de enemigos naturales de los pulgones, se estableció un lote de melón orgánico (3m x 1m) mediante la aplicación semanal de biofertilizantes líquidos de producción local (bioles) y se transfirieron hembras ápteras de Aphis gossypii y Myzus persicae para la colonización de las plántulas; los insectos benéficos se colectaron mediante abatimiento de redes entomológicas, uso de mantos blancos y aspiradores.

2.2 Detección y conservación del aislamiento viral.

Para la detección serológica del SqMV se utilizó la técnica inmunoenzimática ELISA de doble anticuerpo “sándwich” (ELISA-DAS) [10]. Se emplearon diagnosticadores específicos (ACD Inc. V054-C3/D3), producidos por Agdia Inc. (Indiana, EU).

La lectura de absorbancia para determinar la presencia de virus se realizó en un fotocolorímetro TECAN, Sunrise 2460033, utilizando una longitud de onda de 405 nm. El valor de absorbancia del control sano se determinó promediando las lecturas de los diferentes controles negativos incluidos en cada ensayo. Como criterio para la determinación del límite de detección se empleó dos veces el valor de la media de los controles negativos.

El aislamiento viral se conservó mediante inoculaciones periódicas en plantas indicadoras de melón (Cucumis melo) y zapallo (Cucurbita sp.), siguiendo el protocolo de Hull [11]. Las plantas inoculadas se colocaron dentro de cajas cubiertas de malla entomológica para evitar el ingreso de insectos u otros artrópodos.

2.3 Identificación y mantenimiento de colonias puras de áfidos.

Para la identificación de los pulgones se realizó el aclaramiento y montaje de los especímenes siguiendo el método de Lamber [12]. Las características morfológicas se compararon con las propuestas por Bustillos y Sánchez, disponibles en la clave general para especies de áfidos ápteros de Colombia [13].

El establecimiento de colonias libres de virus se realizó con la descendencia áptera de las especies identificadas. Las hembras ápteras se colocaron en cajas petri de polietileno de 12 a 24 horas o hasta que se constatara la producción de ninfas; con posterioridad, se trasfirieron las ninfas a las plantas hospederas con un pincel humedecido con agua destilada para iniciar la colonia. La colonia de Aphis gossypii se estableció sobre plántulas de melón (Cucumis melo) sanas, mientras que la de Myzus persicae se mantuvo sobre pimiento (Capsicum annum), a 27℃ de temperatura.

2.4 Pruebas de transmisión vectorial.

Previo al período de adquisición, las hembras ápteras fueron sometidas a una hora de ayuno; posteriormente, grupos de tres áfidos fueron colocados en plantas infectadas con el virus del mosaico de la calabaza; la inserción del estilete fue comprobada mediante la observación de los individuos con una lupa de mano (10X). Cuando los insectos colocaron sus antenas hacia atrás sobre el dorso, se consideró el inicio del periodo de adquisición. Los tres áfidos fueron mantenidos en las hoja infectada por cinco minutos. Luego del periodo de adquisición, los pulgones fueron transferidos usando pinceles finos a la primera hoja apical de una planta sana de melón para un periodo de inoculación de cinco minutos. Finalizado éste, los pulgones fueron eliminados Veinte plantas fueron inoculadas por cada especie de áfido y se realizaron cinco repeticiones del experimento. Como control, 100 plantas de melón fueron inoculadas por cada especie de pulgón, los áidos fueron alimentados en el periodo de adquisición de hojas sanas.

Para determinar la transmisión viral se realizaron análisis mediante la prueba inmunoenzimática de ELISA-DAS con los diagnosticados específicos (epígrafe 2.2). Los datos de la transmisión por pulgones se sometieron a un Análisis de la Varianza (p<=0,05 de significancia) para comparar la eficiencia de la transmisión.

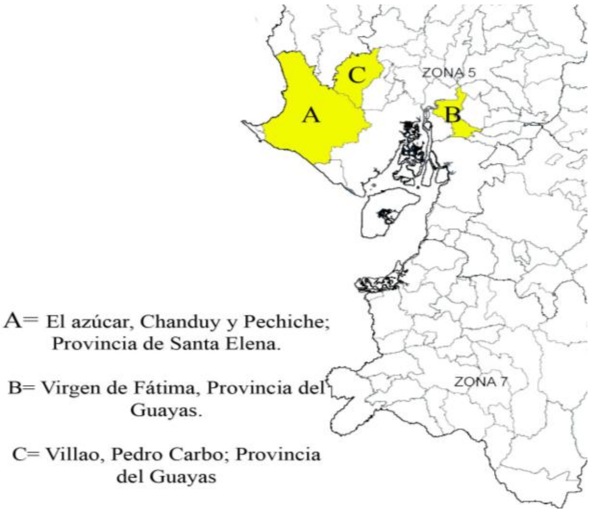

Figura 1 Cantones de la provincia del Guayas muestreados, el virus del mosaico de la calabaza fue reportado en las localidades A y C - coloreadas de amarillo - .

2.5 Identificación de enemigos naturales de los áfidos.

La identificación de los predadores de pulgones se realizó mediante la comparación de características morfológicas utilizando colecciones sinópticas disponibles en internet; las utilizadas en la presente investigación fueron: Coccinellidae del Perú [14], Colección sinóptica del Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa Rica (INBIO) [15], Colección e Identificación de Dípteros [16] e imágenes e información de insectos y arañas de Estados Unidos y Canadá (BUGGUIDE) [17]. Se consideraron características morfológicas con valor diagnóstico tales como: coloración y manchas de los élitros y del pronoto.

Para el aislamiento de hongos ya esporulados sobre los pulgones colectados, se realizaron siembras en cajas petri de 10 cm de diámetro, por el método de siembra directa en medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar), en presencia de antibióticos, según el método descrito por Rhodes & Smith [18]. Para los individuos sospechosos de micosis se realizaron lavados con agua estéril y desinfecciones con NaHClO a 0,5% durante 1 min. Seguidamente se realizaron dos lavados con agua estéril y se colocaron en cámaras húmedas incubadas a 28ºC por siete días. En los individuos donde se detectó la presencia de micelio, se realizaron transferencias bajo condiciones asépticas, con siembras directas de acuerdo con el método ya mencionado. Se realizaron preparaciones al microscopio óptico que se compararon con las descripciones de géneros de hifomicetos [19, 20]. Los hongos pertenecientes a un género entomopatogénico de interés, se multiplicaron en medio agarizado para conservar las cepas y realizar estudios posteriores; las muestras que no correspondieron a hongos de importancia entomopatogénica fueron eliminadas.

3. Resultados y Discusión

3.1 Detección del virus.

Se comprobó la presencia del virus del mosaico de la calabaza en muestras de melón (Cucumis melo), pimiento (Capsicum annum), sandía (Citrullus vulgaris) y Centrosoma sp. provenientes de las localidades de Pedro Carbo y Santa Elena tal como se observa en la tabla 1 -Centrosoma sp. es una maleza de la familia Fabaceae común en la zona de Pedro Carbo-. Se evidenció además que dos especies de pulgones -identificadas con posterioridad- se encontraban colonizando los cultivares en estudio (Tabla 1)

Tabla 1. Resultados de pruebas serológicas a material vegetal sintomático de las zonas de Pedro Carbo y Santa Elena.

Localidad	Especie vegetal	Número de plantas evaluadas	Sq MV*	Especies de pulgones identificados
Santa Elena	Capsicum annum	39	0	MP
	Citrullus lanatus	34	0	AP
	Cucumis melo	13	1	AP
Pedro Carbo	Capsicum annum	3	3	MP, AP
	Citrullus lanatus	13	4	AP
	Cucumis melo	114	16	AP
	Centrosema sp.	3	1	MP, AP
	TOTAL	219	25	

* Numero de muestras positivas
Sq MV= Squash Mosaic Virus
2 ELISA COMPETITIVO
UDO plantas positivas 0,205 - 2,43
UDO control positivo 1,47 - 3,45
UDO control negativo 0,063 - 0,105
\- No se encontraron pulgones
MP= Myzus persicae
AP= Aphis gossypii

3.2 Identificación de pulgones.

Se identificaron dos especies de pulgones que corresponden a: Aphis gossypii Glover (Insecta: Hemiptera: Aphididae) -especie reconocida por su eficacia en la transmisión no persistente del virus del mosaico del pepino y de varios potyvirus- y Myzus persicae Sulzer (Insecta: Hemiptera: Aphididae) - considerado el vector más importante de virus en plantas- [21, 22].

Las características definitivas que permitieron la identificación de las hembras ápteras de A gossypii fueron: el margen frontal ligeramente sinuoso, los tubérculos antenales muy poco desarrollados, los cornículos más anchos en la base y tres pares de setas ubicados en la cauda (Figura 2).

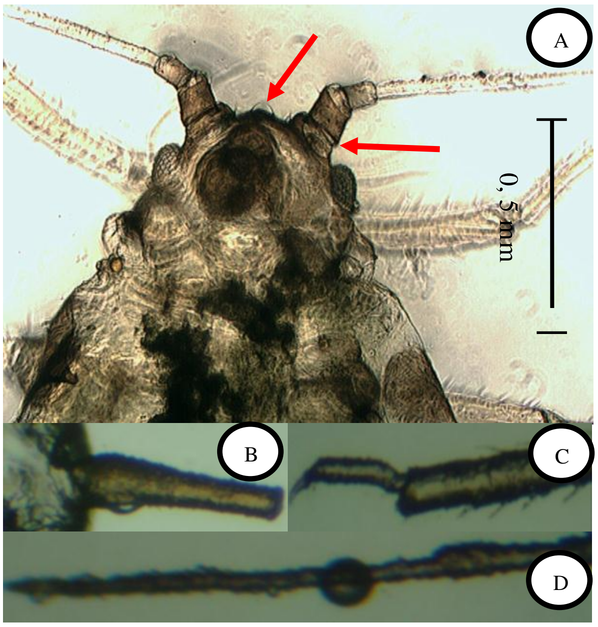

Figura 2 A) Vista dorsal de *A. gossypii*; se observa el margen frontal ligeramente sinuoso. B) Cornículos ligeramente más anchos en la base. C) Tarso y extremo de la tibia oscuros. D) Último segmento antenal. © CIBE-ESPOL. 2011.

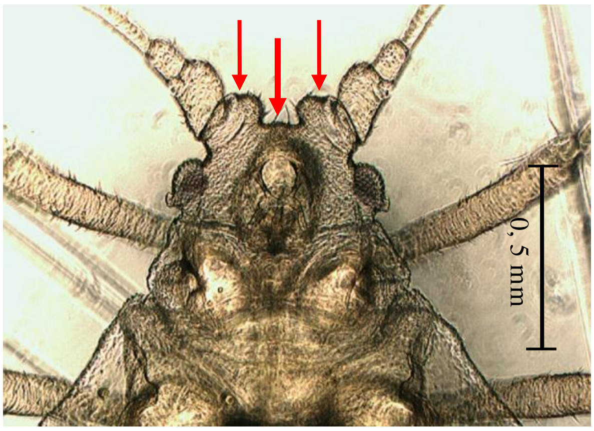

Figura 3 Vista dorsal de *Myzus persicae*; se observa el argen frontal cóncavo con tubérculos antenales bien desarrollados. © CIBE-ESPOL, 2011.

Por otra parte, el margen frontal cóncavo, los tubérculos antenales bien desarrollados y el hinchamiento en el extremo distal de los sifúnculos fueron definitivos para la identificación de Myzus persicae Sulzer (Figura 3).

3.3 Transmisión vectorial de virus.

En los ensayos realizados, el 10,84% de las plantas inoculadas biológicamente con A. gossypii reaccionaron positivamente en las pruebas de ELISA-DAS para el virus del mosaico de la calabaza (SqMV). La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos. No se detectaron plantas positivas en los ensayos con M. persicae ni en los controles de los ensayos.

La tabla 3 muestra los porcentajes de transmisión del SqMV determinados a partir de los resultados de la detección inmunoenzimática del virus en las plantas de. las cinco repeticiones evaluadas por tratamiento. Puede observarse que en todas las repeticiones realizadas se detectó transmisión del SqMV mediante A. gossypii, no así en los ensayos con M. persicae y los testigos (controles Ag y Mp), en los que la transmisión viral fue nula (0%).

No existen registros de la transmisión del virus del mosaico de la calabaza mediante áfidos; sin embargo, especialistas de la Universidad de Georgia [28] y Colorado (Howard Schwartz, 2011, comunicación personal), testifican la posibilidad de la transmisión de SqMV por pulgones. Los resultados obtenidos en este trabajo podrían constituir el primer registro sobre bases experimentales de la transmisión del SqMV, virus perteneciente al género Comovirus, por insectos de la familia Aphididae. Sería conveniente con posterioridad, comprobar si en el genoma de este virus, se encuentran secuencias asociadas a la transmisión por áfidos.

Según los resultados Kalleshwaraswamy et al. [23], el porcentaje de transmisión puede variar entre otros factores, por el número de áfidos empleados en los ensayos. Otras causas que determinan los bajos porcentajes de transmisión son: el tiempo tomado por cada especie para la inserción del estilete durante la prueba inicial en la planta sana [24, 25, 26]; la exposición de las partículas virales ligadas al estilete a diferentes enzimas y las condiciones iónicas que pueden afectar la superficie estructural de los viriones [27], así como la composición química de la secreción salivar, que puede variar con la especie de vector e inclusive entre biotipos de la misma especie [27]. En ese sentido, se deben considerar todos estos parámetros al momento de continuar las evaluaciones respecto a este tema; las variables como la capacidad de retención de las partículas virales y el incremento del período de ayuno pueden ser también, parámetros a tener en cuenta en evaluaciones posteriores (Lenin Paz, comunicación personal).

Tabla 2. Resultados preliminares de la eficiencia de la transmisión del virus del mosaico de la calabaza (SqMV) por *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* [d]

Especies de áfidos	Número total de plantas inoculadas mediante el vector	% de plantas con SqMV confirmado por ELISA [g]	Media de valores UDO (ELISA)
Aphis gossypii	100	10,84 + 0,031 a	0,21 ± 0,073 a
Myzus persicae	100	0,00 b	0,10 ± 0,003 b
Control 1 [e]	100	0,00 b	0,08 + 0,002 c
Control 2 [f]	100	0,00 b	0,08 + 0,002 c
H test		10,71 *	59,40 *
Valor p		0,0003	< 0,0001

* Diferencias estadísticamente significativas ($p<=0,05$)

d Inoculacion biológica; cinco repeticiones; 20 plantas por repetición

e Myzus persicae se alimento de plantas libres de virus en el periodo de adquisición

f Aphis gossypii se alimento de plantas sanas en el periodo de adquisición

g $\bar{x} \pm$ sem; sem= $\sqrt{(\sigma/n)}$

Tabla 3. Porcentaje de transmisión total del virus del mosaico de la calabaza (SqMV) en las diferentes repeticiones experimentales.

	REPETICIONES				
TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V
A. gossypii	16%	7%	12%	7%	13%
Control Ag	0%	0%	0%	0%	0%
M. persicae	0%	0%	0%	0%	0%
Control Mp	0%	0%	0%	0%	0%

Control Ag = Aphis gossypii se alimentó de plantas sanas en el periodo de adquisición

Control Mp = Myzus persicae se alimentó de plantas sanas en el periodo de adquisición

3.4 Identificación de enemigos naturales.

En la tabla 4 se presenta la taxonomía de las diferentes especies de enemigos naturales (predadores y parasitoides) de A. gossypii y M. persicae identificados en este trabajo. Se colectaron un total de 36 individuos agrupados en cuatro (4) órdenes y cuatro (4) familias. Un total de 13 especies de insectos fueron identificadas.

Se identificó una especie de parasitoide de pulgones, el microhimenóptero Lysiphlebus testaceipes Cresson (Hymenóptera: Braconidae: Aphidiinae). Las características morfológicas que permitieron la identificación del insecto fueron: longitud promedio de 1.7 mm (puede variar de 1.3 a 2.0 mm); coloración parda oscura a negra; venación reducida; el intercúbito y parte del cúbito en el ala anterior se encuentran formando una T invertida; no presenta vena recurrente; posee 12 segmentos antenales y cuatro (4) tarsales. Se encontró al insecto parasitando ninfas de A. gossypii Glover y M. persicae Sulzer.

Las características morfológicas con valor diagnóstico que permitieron la identificación para cada especie de depredador fueron:

· Pseudodorus clavatus F. (Díptera: Syrphidae): Forma del cuerpo elongada muy peculiar que puede confundirse con los géneros Baccha y Ocyptamus; mide de 7 a 12 mm; el patrón de las alas y la coloración del escutelo diferencian esta especie. El escutelo de P. clavatus se caracteriza por ser de color amarillo con una amplia banda transversal de color negro. Se encontró a las larvas del sírfido alimentándose de ninfas de las dos especies de pulgones en estudio.

· Brumus quadripustulatus Linnaeus (Coleóptera: Coccinellidae): Son de color negro brillante con dos manchas de color anaranjado o rojizo en cada élitro; las manchas delanteras tienen forma de “C” o “coma (,)”. Miden de 4 a 6 mm. Las larvas y adultos de B. quadripustulatus fueron colectados alimentándose de pulgones, escamas y cochinillas.

Tabla 4. Taxonomía de especies de enemigos naturales de *A. gossypii* y *M. persicae* identificados.

Orden	Superfamilia	Familia	Subfamilia	Tribu	Género	Especie
Coleóptera	Cucujoidea	Coccinellidae	Chilocorinae	Chilocorini	*Brumus*	*B. quadripustulatus*
			Scymninae	Scymni	*Scymnus*	-----
			Coccinellinae	Halyziini	*Psyllobora*	*P. confluens*
			Scymninae	Brachiacanthini	*Cyra*	-----
			Coccinellinae	Halyziini	*Psyllobora*	-----
			Coccinellinae	Coccinellini	*Coccinella*	-----
			Sticholotidinae	Microweiseini	*Microweisea*	-----
			Coccinellinae	Coccinellini	*Cycloneda*	*C. munda*
			Coccinellinae	Coccinellini	*Paraneda*	*P. pallidula*
			Scymninae	Hyperaspidini	*Tenuisvalvae*	*T. bromelicola*
Díptera	-----	Syrphidae	Syrphinae	Syrphini	*Pseudodorus*	*P. clavatus*
Hymenóptera	Ichneumonoidea	Braconidae	Aphidiinae	-----	*Lysiphlebus*	*L. testaceipes*
Hemíptera	Cimicoidea	Anthocoridae	-----	-----	***Orius***	***O. insidiosus***

· Scymnus sp. Mulsant (Coleóptera: Coccinellidae): Son escarabajos diminutos cuya longitud osciló entre 1.5 y 2 mm; se caracterizan por tener forma ovalada; la coloración de los élitros es marrón, presenta una mancha triangular oscura que cubre parte de los élitros y un semicírculo negro desde la base de los élitros en el pronoto. Se encontraron alimentandose de A. gossypii, M. persicae, huevecillos y ninfas de Bemisia tabacci, Pseudocóccidos y escamas.

· Psyllobora confluens Fabricius (Coleóptera: Coccinellidae): La coloración de este insecto varió de marfil a amarillo, tiene 10 manchas de color marrón que varió de marrón claro a casi negro y las manchas se encuentran en disposición 2, 3, 1, 3, 1 en cada élitro pudiendo presentarse más o menos unidas o totalmente separadas; la mancha 2 presenta una extensión lineal hasta la 5. Los adultos miden de 3 a 4 mm. Se colectaron las larvas y adultos de colonias de A. gossypii en melón.

· Psyllobora sp. Fabricius (Coleóptera: Coccinellidae): Este insecto presentó una coloración marfil claro cuya tonalidad es más tenue que P. confluens; las manchas de color marrón oscuro están más separadas y se diferencian claramente; similar a P. confluens, las manchas se encuentran en disposición 2, 3, 1, 3, 1 en cada élitro. Los adultos de esta especie miden entre 1,5 y 2 mm. Se colectaron los individuos alimentándose de ninfas de A. gossypii.

· Cyra sp. Mulsant (Coleóptera: Coccinellidae): El cuerpo de estos insectos es de forma ovalada. La coloración del cuerpo del insecto es negra con manchas de color amarillo; presenta 5 manchas en cada élitro en disposición: 2, 2, 1 (dos en la base, dos en la mitad y una posterior algo transversal); el pronoto es negro con manchas laterales amarillas y una línea transversal delgada e incompleta de color amarillo rojizo en el centro. Miden 4 mm aproximadamente. Las larvas y adultos se colectaron alimentandose de pulgones del melón y el cacao.

· Coccinella sp. Linnaeus (Coleóptera: Coccinellidae): Estos coleópteros presentan el cuerpo de forma ovalada y de color anaranjado con cuatro manchas negras en cada uno de los élitros: dos en la base, una en el centro y otra posterior. La segunda mancha de la base del élitro izquierdo, se une con la primera mancha del élitro derecho. El pronoto es negro con el margen superior de color anaranjado rojizo. Miden aproximadamente 4 mm. Los adultos se colectaron de colonias de pulgones (en melón) y escamas.

· Microweisea sp. Cockerell (Coleóptera: Coccinellidae): Son diminutos insectos depredadores de 1,5 mm, se encontraron alimentandose de ninfas de pulgones y de ácaros. Los élitros no cubren la totalidad de los segmentos abdominales; pronoto marginado en la base de los élitros; la cabeza no es visible dorsalmente. Fueron colectados de colonias de pulgones en melón.

· Cycloneda munda Say (Coleóptera: Coccinellidae): Mide entre 5 a 6 mm, es de color anaranjado, más clara que C. sanguinea. Se caracteriza por tener una mancha blanca o amarillo pálida en forma de "C" en los extremos laterales del pronoto. El clípeo de C. munda, tiene una mancha blanca rectangular, a diferencia de C. sanguinea que tiene dos y de C. polita que posee dos manchas triangulares de la misma coloración. Se colectaron los especímenes alimentándose de colonias de pulgones.

· Paraneda pallidula guticullis Mulsant (Coleóptera: Coccinéllidae): Son insectos de color ocre claro, con los bordes pronotales color crema y un ligero borde negro que lo separa de la zona discal. Los ojos de este insecto tienen un margen definido de color ocre más oscuro. Miden de 4,5 a 6 mm. Se colectaron los adultos alimentándose de pulgones.

· Tenuisvalvae bromelicola Sicard (Coleóptera: Coccinéllidae): Son de color amarillo: pronoto con una gran mancha negra en la base que llega casi al borde delantero, dividida en el centro. Los élitros son de color amarillo, con mancha común negra en forma de murciélago, que deja dos manchas amarillas subescutelares grandes, y un borde irregular amarillo, interrumpido en el tercio anterior. Los adultos se colectaron alimentandose de A. gossypii y M. persicae.

· Orius insidiosus Say (Hemíptera: Anthocoridae): La longitud del cuerpo varió entre 1,1-2,0 mm; la cabeza es negra, generalmente presentando el área comprendida entre la base de las antenas y la punta de la cabeza de color crema claro. Es un depredador polífago que se alimenta de varias presas, tales como ninfas de áfidos, trips, moscas blancas y saltahojas, ácaros, huevos y larvas pequeñas de plagas lepidópteras. Se colectó de colonias de pulgones.

Adicionalmente, se identificaron dos especies de hongos entomopatógenos: Nomuraea rileyi y Aspergillus ochraceus. El primero ha sido informado como patógeno de más de 30 especies de larvas de lepidópteros, principalmente cuando éstas se encuentran en condiciones de alta humedad relativa [29]. Ha sido aislado, fundamentalmente, a partir de insectos muertos y de suelos cultivados [30], encontrándose muy asociado a fitófagos importantes, como Spodoptera frugiperda en campos de maíz [31]. La infección de pulgones a causa de este hongo fue estudiada previamente por Wyckhuys y O'neil [32]. Por otra parte, hongos entomopatógenos del género Aspergillus han sido reportados como controladores biológicos de áfidos [30]. Hornbostel et al. [33] señalan que A. ochraceus es causante de alteraciones en la fecundidad, y en los períodos de preoviposición y oviposición de sus hospederos.

El número de organismos antagonistas identificados en la zona de estudio, constituye un indicativo del equilibrio ambiental adecuado que se genera por la no aplicación de agrotóxicos sobre el cultivo y el uso de biofertilizantes líquidos (Bioles). El conocimiento de los organismos benéficos presentes en el país, constituye la base esencial para nuevas investigaciones y trabajos de desarrollo que permitan la implementación de programas de manejo integrado de plagas basados en el uso racional de la biodiversidad nacional, con evidentes ventajas dadas por su disponibilidad y adaptación en el medio. Además, el número significativo de especies por metro cuadrado encontradas, justifica el estudio sobre estos benéficos en zonas con mayor biodiversidad del Ecuador.

4. Conclusiones

Se comprobó la presencia del virus del mosaico de la calabaza (SqMV) (11,42 % del total de muestras evaluadas) en cultivos de ciclo corto de: Cucumis melo, Citrullus lanatus y Capsicum annum, y además, en la "maleza" Centrosoma sp en las zonas de Pedro Carbo y Santa Elena.

Las especies de pulgones asociadas a cucurbitáceas infectadas con el virus del mosaico de la calabaza correspondieron a Aphis gossypii Glover y Myzus persicae Sulzer.

Bajo las condiciones experimentales empleadas en este trabajo, se determinó la transmisión de SqMV por A. gossypii en un porcentaje de 10, 84% ± 0,031. La transmisión con M. persicae y en los controles fue nula.

Se identificaron quince enemigos naturales de los pulgones: Brumus quadripustulatus, Scymnus sp, Psyllobora confluens, Psyllobora sp, Cyra sp, Coccinella sp, Microweisea sp, Cycloneda munda, Paraneda pallidula y Tenuisvalvae bromelicol (COLEÓPTERA), Orius insidiosus (HEMÍPTERA), Pseuodorus clavatus (DÍPTERA), Lysiphlebus testaceipes (HYMENOPTERA) y las especies fúngicas Nomuraea rileyi y Aspergillus ochraceus.

5. Referencias

[1] Garzozi, R. Romero, C. Pfister, E., 2009. "Producción agrícola del melón tipo yellow canary de exportación" Tesis de Economía, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Economía y Negocios,

[2] Lucier, G. Glaser L., 2010. Vegetables and Melons Outlook: Fresh Vegetables Freeze, Prices Rise. A report from the Economic Research Service. USDA VGS-337.

[3] Lindhout, G., 2011. Central American melon season started at Hagé, actualizado en enero del 2011, disponible en: http://www.freshplaza.com/news_detail.asp?id=74790.

[4] El Diario. 2007 "El virus anónimo sigue destruyendo cultivos". Consultado el 3 octubre del 2010, disponible en: http://www.eldiario.com.ec/noticias-manabi-ecuador/41725.

[5] Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria, 2008, Lista de plagas cuarentenarias no presentes en el Ecuador, Registro oficial # 388 del 24 de julio del 2008.

[6] Espinoza L., Jama M., Campuzano A., Ibarra A., Paredes Jr., Álvarez R., Peralta El. 2010. First

Report of Squash Mosaic Virus (SqMV) in Melón and Watermelon crops in Ecuador. British Plant Pathology Society (in press).

[7] Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibb, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. 1996. Plant viruses online: descriptions and lists from the VIDE database. Version: 20 de agosto 1996. http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/

[8] Nault, L. R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: A newsynthesis. Ann. Entomol. Soc. Am. 90:521-541.

[9] ICTVDB Management. 2006. 00.018.0.01.015. Squash mosaic virus. In: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA.

[10] Clark, M. F.; A. N. Adams. 1977. «Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses», Journal of General Virology 34:475-483, Inglaterra.

[11] Hull, R. 2004. Mattews' Plant Virology, Fourth edition, London, 1001 p.

[12] Smith, CF.; Martorell L.F. y Peres M.E. 1963. Aphididae of Puerto Rico. Univ. Puerto Rico, Agr. Exp. Sta. Tech., Paper 37: 1-121.

[13] Bustillo Pardey, A.E.; Sánchez Gutiérrez, G. 1977. Los áfidos en Colombia: plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia económica. Ed. Bogotá (Colombia). Instituto Colombiano Agropecuario. 96 p.

[14] González, G. & Vandenberg, N., 2007. Los Coccinellidae de Perú [online]. Disponible en World Wide Web: http://www.coccinellidae.cl/paginasWebPeru.

[15] Instituto Nacional De Biodiversidad. 2009. Colecciones sinópticas de Artrópodos [online]. Disponible en World Wide Web: http://lucina.inbio.ac.cr/synoptics/

[16] DipteraInfo. 2010. Images in Diptera Gallery and Forum. [online]. Disponible en World Wide Web:http://www.diptera.info/photogallery.php?album_id=49&rowstart=630.

[17] BugGuide. 2005. Identification, Images, & Information For Insects, Spiders and Their Kin For the United States & Canada [online]. Disponible en: http://bugguide.net/node/view/15740

[18] Rhodes, D. J.; Smith J. D. 1992. «Techniques for Quantifying the Ecologicaland Pathological Characteristics of Entomopathogenic Fungal Strains». Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases, 351-356.

[19] Barnett, H. L.; B. B. Hunter. 1998.Illustrated Genera of Imperfect Fungi, 4th Edition, The American Phytopahological Society Press.

[20] Tzean S.S., Hsieh L.S., Chen J.L., Wu W.J. 1993. Nomuraea cylindrospora. Mycological Society of America Vol 85. No 3. Pp: 514-519.

[21] Sepulveda P., Larraín P., Quiroz C., Rebufel P. y Graña F. 2005. Identificación e Incidencia de Virus en Pimiento en la Zona Centro Norte de Chile y su Asociación con Vectores. Agric. Téc., vol.65, n.3, pp. 235-245.

[22] Beemster A.B.R., De Bokx J.A. 1987: Survey of properties and symptoms. En J. A. de Bokx & J.P.J. van der Want Eds., 1987. Pp 83-113.

[23] Kalleshwaraswamy CM, Kumar NKK. 2008. Transmission efficiency of Papaya ringspot virus by three aphid species. Phytopathology.;98(5):541-546.

[24] Kaakeh, W., And Dutcher, J. D. 1993. Population dynamics and probing behavior of cowpea aphid A. craccivora (Homoptera: Aphididae) on preferred and nonpreferred host cover crops. J. Entomol. Sci. 28:145-155.

[25] Stubbs, L. L. 1960. Aphid transmission of broad bean wilt virus and comparative transmission efficiency of three vector species. Aust. J. Agr. Res. 11:734-741.

[26] Yuan, C., and Ullman, D. E. 1996. Comparison of efficiency and propensity as measures of vector importance in Zucchini yellow mosaic potyvirus transmission by Aphis gossypii and A. craccivora. Phytopathology 86:698-703.

[27] Gray, S. M., Banerjee, N. 1999. Mechanism of arthropod transmission of plant and animal viruses. Microbiol. Mol. Biol. R. 63:128-148.

[28] Forestry Images. 2010. Squash Mosaic Virus. The University of Georgia-Warnell School of Forestry and Natural Resources and College of Agricultural and Environmental Sciences [online] Disponibleen:http://www.forestryimages.org/browse/subimages.cfm?sub=10380&Area=96.

[29] Devi U, Mohan C, Padmavathi J, Ramesh K. 2003. Susceptibility to Fungi of Cotton Bollworms before and after a natural epizootic of the Entomopathogenic Fungus Nomuraea rileyi (Hyphomycetes). Biocontrol Sci Technol. 13(3):367-371.

[30] Bing S, Yu H, Chen A, Liu X. 2008. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards. Crop Protection. 27:1421-1426.

[31] Wyckhuys Ka, O'neil Rj. 2006. Population dynamics of Spodoptera frugiperda Smith (Lepidoptera: Noctuidae) and associated arthropod natural enemies in Honduran subsistence maize. Crop Protection. 25:1180-1190.

[32] Vu Vh, Hong Si, Kim K. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. J Biosci Bioeng. 104:498-505.

[33] Hornbostel Vl, Ostfeld Rs, Zhioua E, Benjamin Ma. 2004. Sublethal effects of Metarhizium anisopliae (Deuteromycetes) on engorged larval, nymphal, and adult Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology 41: 922–929.