



UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO

**FACULTAD DE ARTES LIBERALES,
ESCUELA DE CIENCIAS AMBIENTALES**

**IMPLEMENTACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN MASIVA DEL PARASITOIDE
CRISÁLIDAL *TETRASTICHUS HOWARDI* (OLLIFF, 1893) EN UN LABORATORIO DE
LA PROVINCIA GUAYAS, ECUADOR.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN QUE SE PRESENTA COMO REQUISITO PREVIO A
OPTAR EL GRADO DE INGENIERO EN GESTIÓN AMBIENTAL.**

NOMBRE DEL ESTUDIANTE

Joshua Norero Moran

NOMBRE DEL TUTOR

René Rodríguez Grimón, M. Sc

SAMBORONDÓN, FEBRERO 2015

DEDICATORIA:

A las tres mujeres que han formado mi vida:

Mi abuela Pilar, quien es mi madre celestial.

Mi madre Helen, quien me enseñó a superar limitaciones.

Y a la Dra. María Elena Estrada, porque sin ella nunca hubiera descubierto la aventura detrás de la ciencia.

AGRADECIMIENTOS:

A René Rodríguez, M. Sc., por su paciencia y dedicación en la elaboración de este artículo.

A la Dra. María Elena Estrada, por su constante motivación y guía en esta colaboración a la ciencia.

A la Arq. Margie Gamez Costales, por impulsarme en mi formación en la vida y en mis estudios.

Al Ing. Felipe Espinoza de Janon, por su paciencia, correcciones, y sugerencias.

A Ricky, Mayra y Carlos Guamán, por su colaboración en el laboratorio.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

RESUMEN

El hyperparasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera; Chalcidoidea: Eulophidae) es uno de los entomófagos más reconocidos para el control de plagas pertenecientes al grupo de los insectos (Prasad *et al.*, 2007) principalmente los barrenadores (Baitha, 2004). El *Diatraea saccharalis* es uno de los barrenadores con más impacto en el mundo agrónomo, siendo responsable de miles de dólares en pérdidas (Sidhu, 2013). El *D. saccharalis* aunque principalmente consume caña de azúcar, ha sido reconocido en Ecuador como plaga dentro de los cultivos de arroz. Para Ecuador, el cultivo del arroz es muy importante comprometiendo un área proyectada de 350.000 hectáreas anuales (INEC, 2013). Durante el período de los meses de Junio, Julio y Agosto del año 2013 en el laboratorio “Soluciones Biológicas Ambientales” (SBAM), se practicó la producción masiva de *T. howardi* como ejemplo para un laboratorio dedicado a la producción comercial. Se muestra la evolución de la producción de *T. howardi* desde el inicio de la instalación del sistema productivo hasta la estabilización de la producción, completándose cinco ciclos. Finalmente se dan recomendaciones sobre la aplicación en el campo, las dosis y el monitoreo de seguimiento para un efectivo control biológico.

PALABRAS CLAVES

Control biológico, plagas de insectos, entomófago, parasitoide, arroz.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

ABSTRACT

The hyperparasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera; Chalcidoidea: Eulophidae) is one of the most recognized entomophagous insects for pest control amongst a variety of insect species (Prasad *et al.*, 2007), primarily borers (Baitha, 2004). The *Diatraea saccharalis* is one of the most impacting borers in the agricultural world being responsible for thousands of dollars of lost goods (Sidhu, 2013). The *D. saccharalis* although mainly a consumer of sugar cane, has been recognized as a pest in rice crops in Ecuador. For Ecuador, rice cultivation is extremely important, promising a projected area of 350,000 hectares per year (INEC, 2013). During the months of June, July and August 2013 in the laboratory SBAM (Biological Environmental Solutions), the mass production of *T. howardi* was practiced as an example for a laboratory dedicated to its commercial production. The evolution of the production of *T. howardi* can be seen beginning with the installation of the productive system until the stabilization of the production, all of which was completed throughout 5 cycles. Finally, recommendations are given about the field application, the dosage, and the follow up to the monitoring for an effective biological control.

KEYWORDS

Biological control, insect pests, entomophagous, parasitoid, rice.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

Históricamente, los insectos barrenadores han sido considerados como plagas del arroz (*Oryza sativa* L.) en el Ecuador, existiendo reportes de los organismos estatales que hacen referencia a su manejo integrado desde la década de los 90 (INAP, 1994), entre los que se mencionaba a *Diatraea* sp. y *Elasmopalpus* sp., entre otros. En publicaciones posteriores, se identifica a *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (*Lepidóptera:Crambidae*) como una importante plaga del arroz (Sidhu, 2013) este insecto originario de las Américas, ha sido principalmente reconocido por atacar a la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) (Hernandez, 2012) aunque también ataca a otros tipos de cultivos entre los cuales se encuentra el arroz. En 2013, según el Boletín situacional de la producción de arroz del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), el *D. saccharalis* no figura entre las principales plagas de la gramínea, pero si como una plaga moderada y potencial.

El arroz es uno de los alimentos básicos más consumidos del mundo, y uno de los más cultivados también, estimándose su producción anual en 700 millones de toneladas aproximadamente (MAGAP, 2013) de las cuales el Ecuador representa alrededor del 0,2% con 350.000 ha de siembra proyectadas para 2015 (INEC, 2013), que se ha visto afectado en los últimos años por la disminución de la superficie cultivada, las condiciones climáticas de sequía y la aparición de plagas (FAO, 2014). La problemática radica en que el país aún no ha alcanzado los estándares de rendimiento que sus principales competidores regionales (Perú y Colombia), manteniendo un promedio de 4,22 Tm/ha y destinando \$32,65 dólares

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

americanos en control de plagas por hectárea (alrededor del 2% del costo de producción) (MAGAP, 2013), entre las que se encuentra el *D. saccharalis*.

Este parásito barrenador tiene una ventaja para sobrevivir en los cultivos, ya que talan y ponen sus crías dentro de la planta (Arregoces, 1981), haciendo sumamente difícil que sea alcanzado por cualquier pesticida o insecticida químico, los cuales no logran penetrar dentro del tallo del arroz. Por ende *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae), de acuerdo a las observaciones de campo según Álvarez (2007), es el candidato idóneo para parasitar a *D. saccharalis* debido a su preferencia por las crisálidas de dicha especie. Por esta razón, el objeto de la presente investigación fue el desarrollo de una metodología de producción en masa de *T. howardi* con la idea de aplicarlo como método de control biológico de la plagas en Ecuador.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

***Tetrastichus howardi*:**

Tetrastichus howardi, es un parasitoide de crisálidas, gregario, que se ha registrado como parasitoide primario o hiperparasitoide facultativo asociado a un gran número de especies del Orden *Lepidoptera*, especialmente varios barrenadores del tallo de los cereales (Salla *et al.*, 2007). Después de eclosionar del huevo, en su fase larval, el *T. howardi* consume a su huésped hasta llegar a un tamaño y edad donde logra liberarse del huésped y empieza buscar nuevos individuos que parasitar para continuar su ciclo reproductivo.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

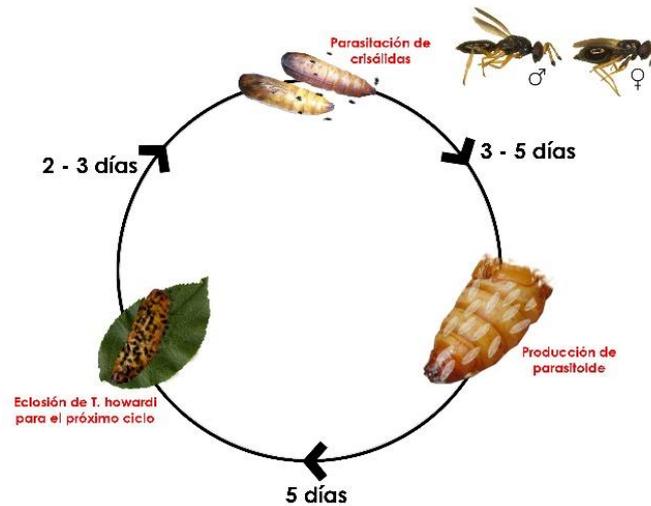


Figura 1. Ciclo de reproducción natural del *T. howardi*. Fuente: Álvarez, 2007.

***Diatraea saccharalis*:**

Diatraea saccharalis, es un lepidóptero parásito que tiene cuatro fases de desarrollo en su ciclo vital. En la primera fase, los huevos son colocados dentro del tallo del arroz por especímenes adultos, después de nacer, las larvas de *D. saccharalis* consumen el tallo para alimentarse lo suficiente antes de pasar a su fase de crisálida; finalmente el ciclo se completa cuando el parásito eclosiona de su crisálida y busca una pareja para reproducirse y buscar nuevas plantas en las que depositar sus huevos.

Control biológico:

En general, los productos químicos son la metodología principal para el control de plagas en la agricultura, con el motivo de erradicar las pestes en forma inmediata. Sin embargo, los insecticidas atacan primordialmente el exterior de las plantas y tiene poco a ningún efecto al barrenador *D. saccharalis* en su estado larval (Sidhu, 2013). El *T. howardi*, siendo hiperparasitoide, combate principalmente las larvas porque los requiere como huéspedes para garantizar su reproducción y descendencia (Álvarez, 2007). Este entomófago fue seleccionado principalmente

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

por la naturaleza gregaria de la especie y el alto porcentaje de hembras que eclosionan listas para parasitar, lo que hace que el ataque del *T. howardi* en las larvas exceda al parasitismo de cualquier otra especie (Flávio *et al.*, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

La producción del *T. howardi*, fue realizada en el laboratorio SBAM, en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas, Ecuador. Al momento de iniciar la metodología, los especímenes ya se encontraban en el laboratorio debido a procedimientos previos realizados en mayo del 2013, incluyendo también una cantidad moderada del huésped *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (*Lepidoptera:Gallerinae*), que en experimentos anteriores fue utilizada para la producción de otro entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915). Los huéspedes y parasitoides fueron seleccionados y clasificados para el proceso de parasitación, que se inició con la producción de *G. mellonella* a partir de larvas alimentadas con una mezcla de balanceado y miel, para la obtención de crisálidas que fueron seleccionadas y tratadas para su parasitación según la metodología descrita por Álvarez en 2004.

El proceso de producción fue dividido en ciclos. Se utilizaron crisálidas de *G. mellonella* de 24 horas de formación, que fueron colocadas en grupos de reproducción, conformados por 10 crisálidas dentro de un tubo de ensayo (15 x 3 cm, tapados con torundas de algodón). Durante los primeros tres días, las crisálidas fueron inspeccionadas para detectar si se excedió el periodo de parasitación. En caso de que la crisálida estuviere en proceso avanzado de desarrollo de convertirse en mariposa, fue separada del proceso de parasitación.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

Los grupos de reproducción se completaron con el parasitoide *T. howardi* a razón de cuatro machos y una hembra por crisálida, para asegurar el éxito de la fecundación e incubación (Cruz *et al.*, 2011). Una vez infectadas, las crisálidas se mantuvieron con los individuos adultos de *T. howardi* por un período de cinco a seis días donde se aseguraba la parasitación de casi la totalidad de las crisálidas. Luego de la parasitación, las crisálidas infectadas fueron colocadas de manera individual en tubos de ensayo para su incubación de aproximadamente cinco días. Después del proceso de eclosión del *T. howardi*, se realizó la separación por sexo (para asegurar el “pie de cría”) y el conteo de individuos para la aplicación en el campo.

Durante el proceso de los 5 ciclos, se presentaron casos de no parasitación y transformación en estado adulto de crisálidas de *G. mellonella* con más de 24 horas de formación, las cuales fueron retiradas y no utilizadas para la obtención de datos, debido a que se trataban de fallas en el momento de la selección y clasificación de las crisálidas.

En todos los ciclos fue utilizada la misma metodología antes descrita y las condiciones abióticas de temperatura y humedad fueron mantenidas como se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1. Variables abióticas de temperatura y humedad relativa y número total de crisálidas durante el proceso de reproducción de *T. howardi* en el laboratorio SBAM.

Ciclo	Temperatura (°C)	Humedad (%)	Número total de crisálidas procesadas y utilizadas	Número total de crisálidas puestas a parasitar	Número total de crisálidas parasitadas
-------	------------------	-------------	--	--	--

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

I	25.8±0.6	65.5±1.1	120	115	108
II	25.3±0.4	65.3±1.1	70	65	59
III	25.1±0.3	65.8±0.6	60	59	54
IV	25.1±0.2	65.8±0.6	470	466	457
V	25.1±0.3	65.6±0.9	510	501	466

Los datos fueron organizados y analizados con estadística descriptiva, utilizando el programa Excel debido a la naturaleza de los mismos y al objeto de la investigación. Las diferencias diarias dentro de cada variable abiótica controlada (temperatura y humedad relativa) se valoraron mediante un análisis de varianza con error ($p < 0,01$). El porcentaje de parasitismo de las crisálidas fue calculado mediante la fórmula utilizada por Álvarez (2004):

$$\% \text{ Parasitismo} = \frac{\text{Número de crisálidas parasitadas}}{\text{Total de crisálidas puestas a parasitar}} \times 100$$

RESULTADOS

El número promedio en cada ciclo de producción de *T. howardi* producidos por cada crisálida de *G. mellonella* fue de 188, 191, 206, 201 y 197 para el primero, segundo, tercero, cuarto y quinto ciclos respectivamente; con un media global de $196,6 \pm 6.5$ individuos/crisálida. La producción total de *T. howardi* dependió de la cantidad de crisálidas infectadas, para nuestro caso el porcentaje de parasitismo fue en promedio de $94 \pm 3\%$ (ver Tabla 2).

Tabla 2. Crisálidas viables, porcentaje de parasitismo y rendimiento de individuos de *T. howardi* eclosionados por crisálida.

Ciclo	Crisálidas puestas a parasitar	Porcentaje de parasitismo de crisálidas	<i>T. howardi</i> /crisálida
I	115	94	188

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

II	65	91	191
III	59	92	206
IV	466	98	201
V	501	93	197

La producción total de los ciclos fue de 20.350, 11.269, 11.231, 91.870 y 91.880 individuos, ver Figura 2. El número de parasitoides emergidos de los últimos dos ciclos fue muy superior, debido a que obtuvieron el resultado de contar con mayor cantidad de crisálidas obtenidas como “pie de cría” de los primeros tres ciclos.

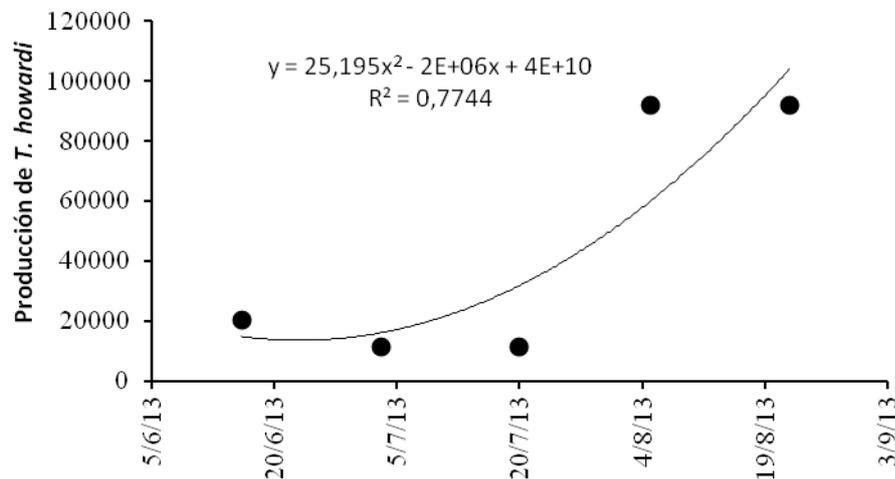


Figura 2. Ajuste en curva Polinómica de la producción en el tiempo de *T. howardi* en condiciones de laboratorio.

El comportamiento del resultado obtenido fue verificado mediante una curva polinómica grado dos, y nos indica que, en los inicios, la producción es baja y luego comienza a obtener valores muy superiores. Esto se debe a que hay que crear un “pie de cría” suficiente que sostenga la producción máxima de la capacidad instalada.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

La proporción promedio de hembras obtenidas de todos los ciclos después de la eclosión fue del 75%, es decir con una razón de 3:1 en relación a los machos. Este resultado indica que el proceso de fecundación previo a la inoculación de huevos para la incubación fue exitoso, con la totalidad de los huevos fecundados por los reproductores. Al respecto, Flávio (2012) indicó en su publicación que, cuando no hay una fecundación efectiva de huevos, las hembras naturalmente inducen la formación de huevos con el 100% de los individuos eclosionados de sexo masculino.

El ciclo de vida del *T. howardi* fue promediado y resumido en el siguiente gráfico, donde se obtuvo un valor de alrededor de 10 ± 1 días desde la parasitación de las crisálidas hasta la eclosión de los adultos, con un promedio de 8 ± 2 días de vida posteriores a la eclosión, dando un total de 18 ± 3 días de vida en promedio sin diferenciación sexual.

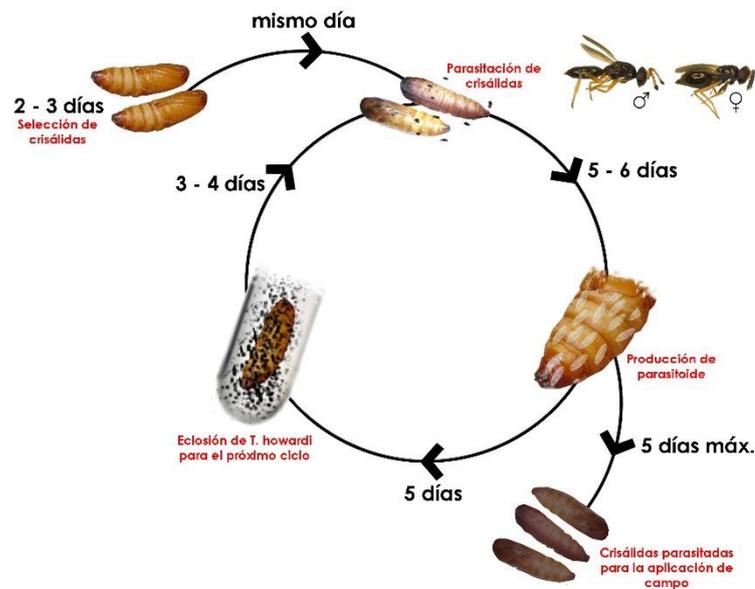


Figura 3. Ciclo de reproducción del *T. howardi* en condiciones de laboratorio.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

No se encontraron diferencias significativas entre la temperatura y la humedad relativa promedio por ciclo ($p < 0.0001$), lo que nos indica que se lograron condiciones parecidas en los cultivos de *T. howardi*.

DISCUSION

La utilización de *G. mellonella* para alcanzar una producción masiva de *T. howardi* fue acertada, teniendo promedios de más del doble de individuos eclosionados por crisálidas constantes, y con menor variabilidad que los registrados en el barrenador objetivo (*D. saccharalis*) de acuerdo a experimentos realizados anteriormente (Cruz *et al*, 2011). Al mismo tiempo, se registró un promedio de eclosión de $196,6 \pm 6,5$ individuos por crisálida, desestimando las generalidades determinadas por Sullivan (1999), que los hiperparasitoides como el *T. howardi* tendrían poca adaptabilidad a huéspedes no específicos y menores tasas de reproducción en los mismos. Además, *G. mellonella* presentó una buena adaptación a las condiciones climáticas controladas del laboratorio a 25°C de temperatura y 65% de humedad, como recomiendan Kishore (1994) y Realpe (2007), optimizando su producción en el mes de agosto, donde hubo un incremento exponencial de la producción de crisálidas por el manejo adecuado de los individuos.

La variabilidad de producción entre los ciclos es explicada por la disponibilidad de crisálidas de *G. mellonella* viables al momento de iniciar el ciclo de producción. Es por eso que durante el primer ciclo se contó con una mayor cantidad de crisálidas disponibles (120) que en el segundo y tercer ciclo, cuando hubo una baja en la producción de crisálidas por falta de un manejo adecuado y

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

preparación del personal (71 y 64 respectivamente), factores que fueron corregidos, logrando incrementar la producción significativamente en los ciclos del último mes de la investigación (cuarto y quinto ciclos, con 475 y 538 crisálidas respectivamente). Las crisálidas de *G. mellonella* con más de 48 horas de formación que alcanzaron el estado adulto, fueron retiradas de los tubos y descartadas como datos para la investigación, ya que fueron errores del personal durante la clasificación de las crisálidas viables, y no presentaron parasitación, en concordancia con los resultados de Cruz y colaboradores (2011). El grupo de reproducción utilizado 4:1 (cuatro machos por cada hembra) resultó efectivo en la parasitación y fecundación de huevos en las crisálidas de *G. mellonella*, a diferencia del grupo idóneo determinado por Perassa (2014) de 1:3 (un macho por cada tres hembras) utilizando como huésped a *D. saccharalis*, resultado que no desestima los obtenidos en la presente investigación, ya que se logró el objetivo de alcanzar una producción masiva de *T. Howardi* por medio de otro huésped, pero que deberá considerarse para la fase de aplicación en el campo en la plaga específica (*D. saccharalis*).

Los altos porcentajes de parasitismo permitieron una alta producción con 91.000 individuos de *T. howardi* en los ciclos más productivos, cantidad fue condicionada por la disponibilidad de crisálidas y por el espacio físico disponible en el laboratorio (6 x 3 m). Cantidades como ésta, cubriría el tratamiento para 7 hectáreas de cultivos de arroz, de acuerdo a lo calculado por Álvarez (1998), que es una dosis de aplicación ideal de 13.000 individuos de *T. howardi* por hectárea para la eliminación de *D. saccharalis*.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

El ratio promedio de hembras obtenidas por eclosión de 3:1 (0,75:0,25), indica una fertilización efectiva de los huevos incubados en las crisálidas, y corresponde con los resultados obtenidos por Cruz y colaboradores (2011), con una proporción de $0,81 \pm 0,12$ hembras por eclosión de huevos fertilizados.

La duración del ciclo de vida del *T. howardi* en el laboratorio presento tiempos mayores de parasitación y desarrollo (18 ± 3 días) que los mostrados en estado natural ($11,5 \pm 1,5$ días), de acuerdo a los resultados publicados en la literatura especializada (Baitha, 2004; Prasad, 2007 y Salla *et al.*, 2007), es un comportamiento normal.

El costo de producción de *T. howardi* para cubrir una hectárea de arroz, según los resultados obtenidos en el laboratorio SBAM fue de \$60.59 dólares americanos, representa aproximadamente 1,9 veces más alto que el monto promedio invertido en control de plagas por hectárea de arroz (\$32/ha) a nivel nacional, de acuerdo al MAGAP (2013). Pero el costo puede llegar a ser reducido mejorando las condiciones del laboratorio, tales como el espacio físico y la disponibilidad de crisálidas huésped que incrementen la producción del entomófago. Además, en la comparación no se está considerando que la inversión realizada a nivel nacional para el control de plagas es insuficiente, y es uno de los factores reflejados en la baja productividad por hectárea de arroz del Ecuador, 3,49 Tm/ha según el USDA (2015). Asimismo, estudios realizados por Arregoces (1981) y Sidhu (2013) demostraron la ineffectividad de insecticidas foliares y sistémicos para el control de insectos barrenadores, específicamente el *D. saccharalis*, debido a la forma de parasitación de la larva dentro del tallo del arroz. Este factor convierte al *T. howardi* en el parasitoide ideal para combatir a esta plaga, ya que busca

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

específicamente dentro del tallo del arroz a las crisálidas de *D. saccharalis* para reproducirse (Kfir *et al.*, 1993).

CONCLUSIÓN

Según los criterios de Favero (*et al.*, 2013), la metodología implementada y el uso del *T. howardi* como agente de control biológico del *D. saccharalis*, cumplen con los preceptos para ser exitosos, debido a que su efectividad como entomófago específico está comprobada en las investigaciones mencionadas en la discusión de resultados. La metodología fue eficaz en implementar la producción masiva del parasitoide alcanzando hasta 91.000 organismos, con un adecuado ratio de hembras y machos (3:1) de *T. howardi*. Se encontró un huésped (*G. mellonella*) que facilita e incrementa las tasas de reproducción en el laboratorio del parasitoide, logrando una producción sostenida de crisálidas a partir del cuarto ciclo. Por último, los costos de producción podrían ser reducidos acondicionando el espacio físico, contando con personal capacitado, realizando ensayos de parasitación en campo para determinar la necesidad real de individuos por hectárea y ratio de aplicación, e implementando técnicas de manejo integrado de plagas que requieran un menor número de individuos que la cantidad propuesta por Álvarez (1998).

RECOMENDACIONES

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

- Mejorar el proceso de selección de crisálidas, ya que afecta directamente a los niveles de parasitación; debido a que, si una crisálida es seleccionada después de los 2 días de formada, la *G. mellonella* alcanza el estado adulto y no es parasitada por el *T. howardi*.
- Continuar con la próxima fase de investigación, la aplicación en campo de los *T. howardi*, para observar su efectividad como control biológico específico de *D. saccharalis* y descartar la posibilidad de que se convierta en un hiperparásito que afecte a otros organismos.
- Determinar la dosis de aplicación y el ratio sexual requeridos para los diferentes tipos de ambientes en los que se produce arroz en el Ecuador, para mantener a las poblaciones de *T. howardi* inviables después de cumplir su rol de control biológico.
- Capacitar al personal técnico para reducir el margen de error en el proceso de producción de parasitoides.
- Contar con una cantidad de crisálidas constante y lista para el proceso de inoculación para garantizar la producción masiva de *T. howardi* y superar los niveles logrados en la investigación.
- Acondicionar el espacio físico para incrementar la producción y reducir los costos para lograr competitividad con los métodos químicos de control de plagas.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

- Investigar la tolerancia de *T. howardi* frente los insecticidas más comerciales en el país, para desarrollar técnicas integradas del manejo de plagas que no afecten el desempeño del parasitoide.
- Incentivar a los productores y los organismos estatales para que incrementen los montos de inversión destinados al control de plagas por hectárea de arroz, con fines de mejorar la productividad a nivel local y nacional.
- Introducir el *T. howardi* como método de control biológico en el mercado nacional para mejorar la calidad fitosanitaria del arroz, reduciendo la aplicación de insecticidas foliares y sistémicos para el control de insectos barrenadores, mejorando a su vez la calidad nutricional del producto y reduciendo la bioacumulación de químicos (Zahirul & Pamplona, 2010)

REFERENCIAS

- Álvarez. (2007). Interacción entre *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) y *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoides de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. . *Centro Agrícola, parte I*, 69-73.
- Álvarez, J. (2004). . Estudios bioecológicos, reproducción artificial y liberación de *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide crisálidal de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. *Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 137.
- Álvarez, J. (1998). Resultados alcanzados por el Programa de Lucha Biológica en la Provincia de Matanzas con el apoyo de los servicios de patología de

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

insectos. *VI Simposio Internacional de Sanidad Vegetal en la Agricultura Tropical, CIAP. UCLV*, 4-5.

Arregoces, O. (1981). Barrenadores del Tallo del arroz en América Latina y su control: guía de estudio. Cali.

Baitha, A. (2004). Parasitizing efficiency of the crisálidal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *Journal of Biological Control* 18, 65-68.

Cruz, I., Redoan, R., Braga de Silva, M., Correa, F. (2011). New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabri.) on maize. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* vol 68, n 2, 252- 254.

De Bortoli, S., Oliveira, H., Doria S., Albelgaria, M., Botti, V. (2005). Aspectos bioecológicos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrógeno e potássio. *Cien. Agrotec.*, Vol. 29, n 2: 267 – 273.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). *Seguimiento del Mercado del Arroz de la FAO, Volumen XVII, 2014*.

Trade and Markets Division. Recuperado de:

www.fao.org/economic/RMM/es

Favero, K., Fagundes, F., Olivera, S., Harley, N. (2013). Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per crisálida of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Florida Entomologist* 96 (2), 583-589.

Flávio, R., García, M., (2012). Augmentative Biological Control using Parasitoids for Fruit Fly in Brazil. *Insects* 2013, 4, 55-70.

Hamm, J., Sidhu, J., Stout, N., Hummel, A., Reagan, T. (2012). Oviposition behavior of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on different rice cultivars in Louisiana. *Environmental Entomology*, vol 4, nº 3: 571-577.

Hernández, V. (2012). Pathogens Associated with Sugarcane Borers, *Diatraea spp.* (Lepidoptera: Crambidae): *International Journal of Zoology*: 1-12.

Hidalgo, R. (2015). Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) o *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) crisálidas. *Ciencias Rural*, 185-188.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. *Manejo Integrado de Plagas en Arroz, 1994*. Quito, Ecuador.

Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador. *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2013*. Quito, Ecuador.

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

Dirección de estadísticas agropecuarias y ambientales. Recuperado de:

http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac%202013/InformeEjecutivoE SPAC2013.pdf

Kfir, R., Gouws, J., Moore, S. (1993). Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. *Biocontrol Science and Technology*, 149-159.

Kishore, R. (1994). Effect of Temperature on the Developmental Period, Progeny Production and Longevity of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Biological control*, 8(1), 10-13.

Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. *Boletín situacional de la producción de arroz, 2013*. Quito, Ecuador.

Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Recuperado de:

<http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/BoletinesCultivos/Arroz.pdf>

Perassa, D. (2014). *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) caterpillars. *Annals of the Entomological Society of America*. 107 (5): 961-966.

Prasad, K. (2007). Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardii* (Olliff.), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). *Journal: Indian Journal of Sericulture Vol. 46 No. 1*, 89-91.

Realpe, A. (2007). Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de nemátodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. *Cenicafé* 58(2): 142-157.

Salla, J., Volk, W., Polaszaek, A. (2007). Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *African Entomology* 15, 45-56.

Sidhu, J. (2013). Performance and preference of sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, on rice cultivars. *Entomologia Experimentalis et Applicata*: 67-76.

Sullivan, D. (1999). Hyperparasitism: Multitrophic ecology and behavior. *Annual review of entomology vol: 44*, 291-315.

U.S. Department of Agriculture. *Gain Report: EC15004, 2015*.

US.Foreign Agricultural Service. Recuperado de:

Implementación de la reproducción masiva del parasitoide crisálidal *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) en un laboratorio de la provincia Guayas, Ecuador.

http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Grain%20and%20Feed%20Annual_Quito_Ecuador_3-1-2015.pdf

Zahirul, I., Pamplona, R. (2010). Control of Rice Diseases. Bangladesh: *International Rice Research Institute*.