



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Ciclo de vida de los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae): *Hippodamia variegata*, *Eriopis connexa* y *Harmonia axyridis*, en condiciones de laboratorio

Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES

EUN HYE YOON

PROFESOR GUÍA: AUDREY GREZ VILLARROEL

SANTIAGO, CHILE
AÑO 2013

FINANCIAMIENTO FONDECYT 1100159



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Ciclo de vida de los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae): *Hippodamia variegata*, *Eriopis connexa* y *Harmonia axyridis*, en condiciones de laboratorio

Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES

EUN HYE YOON

PROFESOR GUÍA: AUDREY GREZ VILLARROEL

PROFESOR CORRECTOR 1: PEDRO CATTAN AYALA

PROFESOR CORRECTOR 2: RIGOBERTO SOLÍS MUÑOZ

NOTA

FIRMA

7.0 (C. Grez, U.)

7.0 (P. Cattán, U.)

7.0 (R. Solís, U.)

SANTIAGO, CHILE
AÑO 2013

**Ciclo de vida de los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae): *Hippodamia variegata*,
Eriopis connexa y *Harmonia axyridis*, en condiciones de laboratorio**

EUN HYE YOON¹

¹ veronicayoon1@gmail.com

ÍNDICE

| | Página |
|----------------------------|--------|
| RESUMEN | 1 |
| Palabras claves | |
| ABSTRACT | 2 |
| Key words | |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| Desarrollo pre-imaginal | 6 |
| Sobrevivencia | 7 |
| Capacidad reproductiva | 7 |
| OBJETIVOS | |
| Generales | 11 |
| Específicos | 11 |
| MATERIAL Y MÉTODO | 12 |
| Análisis estadístico | 14 |
| RESULTADOS | |
| Duración del ciclo de vida | 15 |
| Talla y peso corporal | 16 |
| Sobrevivencia | 17 |
| Capacidad reproductiva | 18 |
| DISCUSIÓN | |
| Duración del ciclo de vida | 21 |
| Talla y peso corporal | 25 |
| Sobrevivencia | 26 |
| Capacidad reproductiva | 27 |
| CONCLUSIÓN | 29 |
| BIBLIOGRAFÍA | 30 |

RESUMEN

El estudio de la dinámica de las poblaciones de coccinélidos en cultivos de alfalfa de Chile central ha determinado una disminución de la abundancia relativa de la especie nativa *Eriopis connexa* y un aumento de las exóticas *Hippodamia variegata* y *Harmonia axyridis*. Ello puede implicar un cambio en el ensamble de coccinélidos a favor de las especies exóticas, lo que podría deberse a ventajas relativas en variables relacionadas con el ciclo de vida, la fecundidad y sobrevivencia. Esta Memoria de Título tuvo por objetivo comparar, bajo condiciones experimentales de laboratorio, la duración y el tamaño corporal de los distintos estadios del ciclo de vida, el peso inicial de los adultos, la sobrevivencia y la capacidad reproductiva de *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis*, con el fin de explorar si efectivamente las especies exóticas tienen ventajas en estas características con respecto a la nativa. Los resultados indican de que *H. variegata* y *H. axyridis* completan el desarrollo preimaginal en menos días que *E. connexa*. El tamaño que alcanzan los estadios larvarios de *H. axyridis* es mayor que el de *H. variegata* y *E. connexa*. El peso inicial del adulto es también mayor en *H. axyridis* que en las otras dos especies, no habiendo diferencias significativas entre estas últimas. La sobrevivencia durante el desarrollo preimaginal no varía entre especies. La fecundidad durante 14 días luego de alcanzar la madurez sexual es similar en *H. axyridis* y *H. variegata*, y mucho mayor que en *E. connexa*. La tasa de oviposición es mayor en *H. axyridis*, seguida por *H. variegata* y por último por *E. connexa*. Por último, el período de preoviposición es menor en *H. variegata* que en las otras dos especies, las cuales tienden a alcanzar la madurez sexual en un período de tiempo similar. En conclusión, la mayor parte de estos resultados sugieren que *E. connexa* tendría desventajas comparativas respecto a las especies exóticas en cuanto a los aspectos biológicos estudiados, demorándose más en alcanzar el estado adulto, teniendo una menor fecundidad, una menor tasa de oviposición y demorándose más en comenzar a oviponer, lo cual podría ser parte de las causas de la disminución en los últimos años de su abundancia relativa, en comparación con las especies exóticas *H. variegata* y *H. axyridis*.

Palabras claves: Duración del ciclo de vida, capacidad reproductiva, sobrevivencia, peso del adulto.

ABSTRACT

The study of the dynamic of coccinellid populations in alfalfa fields of central Chile has shown a decrease in the relative abundance of the native species *Eriopis connexa* and an increase of the exotics *Hippodamia variegata* and *Harmonia axyridis*. This could lead to a change in the coccinellid assemblages in favor of the exotic species. This in part, could be related to advantages inherent to the life cycle, fecundity and survival of the exotic species. The objective of this study was to compare, under laboratory conditions, the duration and body size of the different stages of the life cycle, the fresh weight of adults, the survival and reproductive capacity of *E. connexa*, *H. variegata* and *H. axyridis*, in order to verify if there are any characteristics of the life cycle that would make exotic species more advantageous over the native species. Results show that *H. variegata* and *H. axyridis* complete the larval stages in fewer days than *E. connexa*. The body size of all larval stages (except for the first larval instar) of *H. axyridis* are larger than *H. variegata* and *E. connexa*. Fresh weight of adults is also higher in *H. axyridis* than in the other two species, being these last two similar in weight. Survival during larval stages does not vary significantly among species. Fecundity during 14 days after reaching sexual maturity is similar between *H. axyridis* and *H. variegata*, and significantly higher than *E. connexa*. Oviposition rate is highest in *H. axyridis*, followed by *H. variegata*, and lowest in *E. connexa*. Finally, pre-oviposition period is shortest in *H. variegata*, while the others tend to reach sexual maturity in similar days. In conclusion, most of these results suggest that *E. connexa* would have comparative disadvantages regarding exotic species, taking longer to reach the adult stage, to start oviposition, having a lower fecundity, and a lower oviposition rate, which may be part of the causes of why this native species has decreased in relative abundance over the last years, in comparison with the exotic species *H. variegata* and *H. axyridis*.

Key words: Life cycle duration, reproductive capacity, survival, adult weight.

INTRODUCCIÓN

En Chile se han identificado más de 500 especies de insectos como potenciales plagas y sólo unas pocas son un real problema para la producción agrícola. Entre estas especies están los áfidos, también llamados pulgones (Hemiptera: Aphididae), los que efectuarían un daño directo a la planta hospedera al consumir su savia, debilitándola e imposibilitando su sano crecimiento.

En cultivos de alfalfa de Chile central coexisten varias especies de áfidos, dominando *Aphis craccivora* Koch, *Therioaphis trifolii* (Monell) y *Acyrtosiphon pisum* (Harris). También en estos cultivos existe una abundante y diversa fauna de coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae), considerados agentes efectivos en la regulación de poblaciones de áfidos. Esta fauna está compuesta por especies tanto nativas como exóticas. Entre las nativas la más abundante es *Eriopis connexa* (Germar) y entre las exóticas *Hippodamia variegata* (Goeze). Recientemente, se ha reportado la introducción al país de *Harmonia axyridis* (Pallas), una especie invasora y con consecuencias negativas en otras partes del mundo (Grez *et al.*, 2010).

El seguimiento por más de 20 años de las dinámicas de las poblaciones de coccinélidos en cultivos de la zona central de Chile ha determinado una disminución de la abundancia relativa de *E. connexa* y un aumento de *H. variegata* (Grez *et al.*, 2012). Por su parte, a pesar de su reciente introducción, *H. axyridis* ha incrementado sus poblaciones de manera evidente (Grez *et al.*, 2010). Ello puede implicar un cambio en el ensamble de coccinélidos a favor de las especies exóticas. El incremento en las abundancias relativas de las especies exóticas puede deberse a ventajas relativas que le confieran distintos factores, entre otros, ciclos de vida más cortos, mayor sobrevivencia o reproducción, menor canibalismo, mayor depredación intragremio, mayor habilidad competitiva o mayor amplitud de nicho trófico o de hábitat respecto a las nativas.

En esta Memoria de Título se tuvo por objetivo conocer y comparar, bajo condiciones experimentales de laboratorio, la duración y el tamaño corporal de los distintos estadios del ciclo de vida, peso inicial de los adultos, la sobrevivencia y capacidad reproductiva de *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis*, con el fin de explorar si efectivamente las especies exóticas tienen ventajas en estas características con respecto a las nativas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los coccinélidos, comúnmente conocidos como “chinitas”, pertenecen a la clase Insecta, orden Coleoptera y familia Coccinellidae. Hay alrededor de 6.000 especies descritas a nivel mundial. En Chile se han registrado aproximadamente 105 especies, incluyendo nativas y exóticas (González, 2006). Aunque los coccinélidos son depredadores de tipo polífagos, la mayoría son carnívoros, basando su dieta principalmente en áfidos, que son insectos que causan pérdidas económicas significativas a la agricultura (Artigas, 1994). Por ello, estos coleópteros han sido usados en las últimas décadas como controladores biológicos naturales de estas plagas, tanto en cultivos de interés agrícola como ornamentales. El control biológico, bien manejado, permitiría disminuir el uso de agroquímicos como insecticidas y plaguicidas, hoy en día cuestionados por el exigente consumidor del siglo XXI. Sin embargo, la eficiencia relativa de los coccinélidos en controlar plagas puede depender de la especie, de cuán rápido complete el ciclo de vida, de su fecundidad y de su sobrevivencia (Duarte y Zenner, 2009).

En Chile central, varias especies nativas y exóticas de coccinélidos se encuentran comúnmente en cultivos de alfalfa (Zaviezo *et al.*, 2006; Grez *et al.*, 2008). Entre las especies más comunes están *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis*, las que presentan su mayor abundancia en primavera, verano y otoño, no así en períodos de baja temperatura cuando entran a una fase de baja actividad metabólica, período que se conoce como diapausa.

Eriopis connexa es una especie endémica del cono sur de Sudamérica, mientras que *H. variegata* y *H. axyridis* son exóticas, originarias de Sudáfrica y Asia, respectivamente. *Eriopis connexa* es el típico coccinélido chileno. Se distribuye en el país desde la I Región de Tarapacá hasta la X Región de Los Lagos (González, 2006). Es de tamaño variable (4 a 6 mm) y de color naranja claro con franjas negras (Fig. 1a). Se sugiere que juega un papel significativo en la disminución de las poblaciones de los áfidos *Myzus persicae* (Sulzer) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Quiroz *et al.*, 2005), por lo cual esta especie es considerada un buen agente de control biológico, ya sea a altas densidades de presas o al iniciarse una infestación (Duarte y Zenner, 2009). Por ello, este coccinélido fue introducido a los Estados Unidos desde Sudamérica, como posible agente controlador del áfido ruso del trigo, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Reed y Pike, 1991). Sin embargo, estudios recientes de laboratorio han demostrado que es sensible a la escasez de áfidos, disminuyendo su reproducción y crecimiento

(Grez *et al.*, 2012).

Hippodamia variegata es uno de los coccinélidos afidófagos más exitosos en colonizar nuevos ambientes, con una amplia distribución a nivel mundial. Esta especie fue introducida a Chile en el año 1967 para el control biológico de los áfidos de los cereales, encontrándose actualmente en abundancia a lo largo de todo el país, exceptuando las regiones XI y XII (Rojas, 2005; González, 2006). Su tamaño varía entre 4 y 5 mm, es de color naranja oscuro con manchas negras distribuidas de manera similar en cada uno de sus élitros (Fig. 1b). En los últimos 20 años, en la medida que sus poblaciones han aumentado en cultivos de la zona central, la abundancia relativa de *E. connexa* ha disminuido concomitantemente (Grez *et al.*, 2012).

Harmonia axyridis es una especie nativa de la parte central y este de Asia. Fue introducida al país en 1998 desde Francia a Los Andes, en una variedad braquíptera (alas cortas que le impedirían volar) para el control biológico de plagas de invernadero (Grez *et al.*, 2010). Estas poblaciones desaparecieron, pero posteriormente, en el año 2008, poblaciones silvestres fueron reportadas en Pirque, al sur de Santiago. En los últimos tres años, *H. axyridis* ha incrementado exponencialmente en el país, distribuyéndose hoy en día desde la IV Región de Coquimbo a la IX Región de la Araucanía, desde el nivel del mar hasta 3200 msnm (A. Grez, comunicación personal¹). En las regiones en que ha sido introducida (EEUU, Canadá y Europa), a pesar de su alta eficiencia como controladora de plagas, es considerada una amenaza por el impacto negativo sobre especies nativas del mismo gremio, el deterioro para el bienestar humano por el hábito de alojarse en grandes cantidades dentro de hogares en los períodos de otoño-invierno, ser alergénica y además dañar algunos frutos blandos como uvas y arándanos, con las evidentes consecuencias negativas sobre la agricultura (Grez *et al.*, 2010). Esto unido a su gran capacidad de dispersión, la hacen ser considerada una especie invasora (Roy y Wajnberg, 2008). *Harmonia axyridis* generalmente es el doble de tamaño que las otras dos especies, sin embargo su tamaño varía entre 4,9 a 8,2 mm (Kuznetsov, 1997). Es polimórfica, variando en color, desde formas cuyos élitros son predominantemente negros, hasta aquellas formas anaranjadas. En Chile se han encontrado sólo estas últimas formas, las que poseen nueve puntos negros en cada élitro, distribuidos de manera ordenada y es claramente identificable por poseer en el pronoto una “M” de color negro sobre un fondo blanco (Fig. 1c). Se caracteriza por su gran voracidad y agresividad al momento de alimentarse, alta fecundidad y baja susceptibilidad a parasitoides o patógenos.

1 Profesora Titular, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

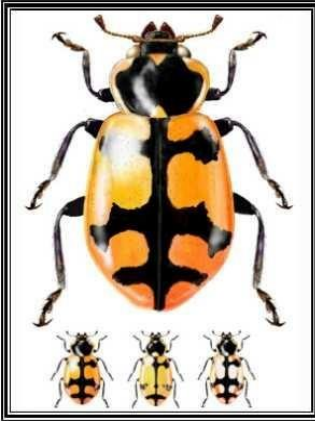
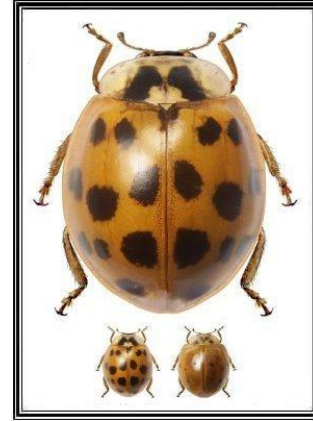
Fig. 1a**Fig. 1b****Fig. 1c**

Fig. 1. Imagen de **a)** *Eriopis connexa* (Germar), **b)** *Hippodamia variegata* (Goeze) y **c)** *Harmonia axyridis* (Pallas).
Fuente: González, 2006(www.coccinellidae.cl).

Desarrollo preimaginal

Los coccinélidos tienen un desarrollo de tipo holometábolo o de metamorfosis completa, que engloba los siguientes estadios: huevo, cuatro estadios de larvas, prepupa, pupa e imago o adulto. Luego de la eclosión de los huevos, las larvas de estadio I suelen permanecer en la cercanía del grupo de huevos por alrededor de un día, alimentándose del corion de su huevo, de huevos vecinos no viables y de huevos vecinos que todavía no han eclosionado. En la transición de un estadio a otro, la larva deja de alimentarse, fija su órgano anal en la superficie con su cabeza baja y luego ocurre la muda de piel. Al pasar de estadios, la larva se torna más ágil y su capacidad de predación aumenta ligeramente con respecto a estadios anteriores. La pre-pupa se la reconoce cuando la larva de estadio IV se ha inmovilizado totalmente, y la pupa, cuando se presente una coloración amarilla en la parte dorsal de la larva primeramente y luego cubriendo la mayor parte del cuerpo de la larva. Cuando recién emergido el adulto, este tiene un color amarillo pálido que poco a poco toma su coloración definitiva (Romero *et al.*, 1974).

La duración relativa de los distintos estadios es propia de cada especie, aunque puede estar afectada por factores ambientales como la temperatura y la cantidad y calidad del alimento o de la dieta. En general, el período de incubación tiene una duración del 15-20% del total del tiempo de desarrollo preimaginal, la etapa de larva 55-65% y la pupa 20-25% (Dixon, 2000). En tanto que en larvas bien alimentadas, el primer estadio tiene una duración cerca del 24% de la duración total del desarrollo pre-imaginal, el segundo estadio 17%, el tercer estadio 19% y el cuarto estadio el 40% (Honek, 1996). El último estadio es siempre de más larga duración que los

estadios anteriores. Estudios comparativos del ciclo de vida de los coccinélidos *H. axyridis*, *H. variegata* y *Adalia bipunctata* (L.), bajo condiciones de laboratorio de 25°C de temperatura y alimentados con el áfido *Myzus persicae*, evidencian diferencias significativas en cuanto al tiempo de desarrollo de la etapa preimaginal, con un promedio de 19,8 días para *H. axyridis*, 18,1 días para *H. variegata* y 18,4 días para *A. bipunctata* (Lanzoni *et al.*, 2004). Por otra parte, la duración de cada etapa juvenil de *E. connexa* criados a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ con un fotoperíodo 16:8 y una humedad relativa de 75%, la incubación duró seis días, los estadios larvarios (I-IV) $16,4 \pm 3,2$ días y el estado de pupa $8,4 \pm 1$ días, completando la etapa pre-imaginal en aproximadamente 32,5 días (Etchégaray y Barrios, 1979).

Sobrevivencia

La sobrevivencia varía según el estado de desarrollo de los coccinélidos. Difícilmente la eclosión de un lote de huevos llegaría al 100% debido a una baja calidad y volumen de la esperma o debido a alguna infección por bacteria. Estas bacterias (citoplasmáticas y gamma proteobacterias) afectarían el desarrollo de machos solamente en estadios tempranos durante la embriogénesis de muchas especies de invertebrados (Nakanishi *et al.*, 2008). Generando una tasa de eclosión de huevos de casi el 50%.

Durante el desarrollo pre-imaginal del coccinélido *Propylea dissecta* (Mulsant), la mortalidad es máxima en el estadio de larva I, posiblemente más alta que en el período de incubación, y es mínima en etapa de prepupa, para luego aumentar en la etapa de pupa. La relativa alta mortalidad del estadio larval I es posiblemente debido a su pequeño tamaño, débil y suave cutícula que hace que sean más vulnerables a los estresores físicos. Por otro lado, las cutículas de mayor grosor de estadios larvarios posteriores y la dura cobertura de la pupa posiblemente son factores que protegerían de las temperaturas extremas y de otros estresores (Omkar y Pervez, 2004b).

Capacidad reproductiva

En general, el sistema reproductivo de la hembra incluye un par de ovarios y un par de oviductos laterales. Cada ovario contiene dentro las llamadas ovariolas, donde se desarrollan los

oocitos. Hembras con mayor cantidad de ovariolas, tienden a ovipositar un mayor número de huevos por lote y por lo general, en períodos de apareamiento sólo la mitad del total de ovariolas de un coccinélido están activas y produciendo huevos (Stewart *et al.*, 1991a). En cuanto a los machos, su órgano sexual madura durante la etapa de pupa, capacitándolos a reproducirse muy prontamente luego de que emergen de la pupa (Hodek y Ceryngier, 2000).

La madurez sexual o período de preoviposición de un coccinélido hembra se alcanza dentro de un período de 13 a 20 días luego de la emergencia del adulto, como se ha observado en hembras de *Coccinella septempunctata* Mulsant, *Coccinella transverso-guttata* Brown, *Hippodamia convergens* Guérin, *Hippodamia quinquesignata* (Kirby) e *Hippodamia sinuata crotchii* (Casey) (Kajita, 2008). En la subfamilia Coccinellinae, la variación interespecífica del período de preoviposición puede ser sustancial, con un rango de 0 a 10 días; en *H. axyridis* es de 6-10 días, en *A. bipunctata* 3-8 días y en *H. variegata* 0-4 días (Lanzoni *et al.*, 2004). El período de preoviposición generalmente aumenta a bajas temperaturas, también se ve modificada según el tipo de alimento que esté en disposición.

La primera cópula se lleva a cabo pocos días luego de que emergen como adulto y durante el acto de la cópula, los machos usan sus patas posteriores para sujetarse con la ayuda del élitro de la hembra. El agitación del cuerpo del macho durante este proceso es esencial para la inseminación.

El número de huevos ovipuestos por día (oviposición diaria o tasa de oviposición) se incrementa rápidamente luego de varios días de la eclosión del adulto, alcanzando un máximo cerca de la segunda a tercera semana para luego decrecer lentamente durante la vida fértil de la hembra (Nedved y Honek, 2012).

La fecundidad, medida como el número total de huevos ovipuestos durante un tiempo determinado por una hembra, es especie específica, aumentando de acuerdo al tamaño de la especie, de la temperatura y de la calidad y cantidad de alimento disponible tanto en el desarrollo pre-imaginal como durante el período de reproducción. Esta variable reproductiva está asociada fuertemente a la adecuación biológica (*fitness*) del individuo y depende de las condiciones medioambientales en el cual se desarrolle. Por lo tanto, para maximizar el *fitness*, los individuos deben ser capaces de maximizar el número de prole y al mismo tiempo incrementar su calidad. Si por ejemplo el consumo de alimento durante los estadios juveniles no es el óptimo, en los insectos existen dos estrategias de adecuación: disminuir el tamaño de los huevos, manteniendo su número (Nº total de huevos ovipuestos por lote) o por el contrario,

disminuir el número de huevos ovipuestos, manteniendo su tamaño. Los coccinélidos adoptan la segunda estrategia, ya que la variación en el tamaño del huevo es mínima (Stewart *et al.*, 1991b). El desarrollo larval de especies con huevos más grandes es relativamente más corto que el de aquellas con huevos más pequeños (Stewart *et al.*, 1991b).

Cada hembra de *E. connexa* puede llegar a oviponer un promedio de 112,7 huevos durante su ciclo de vida, distribuidos en once posturas y con una mayor concentración de la ovoposición en los primeros 25 días de la fase reproductiva (Duarte y Zenner, 2009). Por su parte, las hembras de *H. variegata* producen en total 789 a 1256 huevos en su período de apareamiento, con una fecundidad total promedio de 959,6 huevos y la mayor proporción de huevos (45%) son ovipuestos en lotes de 11 a 20 huevos (Kontodimas y Stathas, 2004). Finalmente, las hembras de *H. axyridis* son capaces de producir hasta 3819 huevos en un rango de 25,1 huevos al día (Takahashi, 1987).

El porcentaje de huevos que se desarrolla completamente, en el cual una larva eventualmente eclosiona de un huevo, es considerado como la tasa de eclosión o viabilidad del huevo. Esta medición diferencia la fecundidad (número de huevos ovipuestos por cada hembra) de la fertilidad (número de prole viable por hembra). La viabilidad del huevo difícilmente llega a ser del 100%, esto debido a un bajo volumen de espermios o a su calidad. También debido al canibalismo que se da entre larvas "hermanas": larvas que eclosionan primero se alimentan de huevos vecinos que no han eclosionado (ya sean huevos viables o no viables) para obtener de este la nutrición necesaria para salir luego en busca de sus presas esenciales (áfidos). De este modo, el canibalismo de huevos "hermanos" tendría un considerable significado de adaptación en las chinitas. El consumo inicial de huevos "hermanos" puede suministrar energía crítica y nutrientes, acelerando el desarrollo e incrementando la sobrevivencia del individuo (Roy *et al.*, 2007). Entre los huevos están los llamados "huevos tróficos" que son huevos no viables o infértiles y que corresponden a la primera fuente de alimento para las larvas recién eclosionadas. Perry y Roitberg (2005) demostraron que oviponer huevos infértiles es una estrategia materna activa en *H. axyridis*. Las hembras de *H. axyridis* producen 56% de huevos infértiles, ellas manipularían la proporción de huevos tróficos a favor de las larvas de estadio I que pudiesen tener problemas en encontrar áfidos una vez emergidas.

El éxito reproductivo de las hembras de coccinélidos sería mayor cuando una hembra copula con varios machos (poliandría), lo cual ha sido demostrado en *A. bipunctata*. Al medir

fecundidad y tasa de eclosión de huevos en hembras que habían copulado diez veces con un sólo macho, se obtuvieron cifras significativamente más bajas que las hembras que habían copulado diez veces pero con machos diferentes (Haddrill *et al.*, 2007).

En cuanto a la razón de sexos en coccinélidos, esta llega a ser cerca del 50:50, exceptuando en casos de infecciones debido a un agente que afecte sólo a machos. También se ha demostrado un aumento en la proporción de machos al criarlos bajo una temperatura alta de 30°C en *Harmonia axyridis* (62-82%) (Lombaert *et al.*, 2008) y en *Propylea dissecta* a 35°C (62%) (Omkar y Pervez, 2004b).

Si bien, como se ha mostrado en esta sección, existen algunos datos aislados respecto a la duración del ciclo de vida, fecundidad y sobrevivencia de estas tres especies de coccinélidos, dicha información proviene de distintos estudios realizados con distintos protocolos, lo que dificulta la comparación interespecífica. Por ello, el estudio que se realizó en esta Memoria de Título, comparando estos atributos de historia de vida de estas especies evaluados bajo el mismo protocolo experimental, permitirá avanzar en el conocimiento de si las especies exóticas tienen ventajas sobre la nativa, lo que podría explicar en alguna medida el mayor éxito en el campo de las poblaciones de *H. variegata* y *H. axyridis* respecto a *E. connexa* en Chile Central.

OBJETIVO GENERAL

Conocer y comparar la duración y el tamaño corporal de los distintos estadios del ciclo de vida, la sobrevivencia y capacidad reproductiva de poblaciones de *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis* desarrolladas bajo condiciones controladas de laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar y comparar entre las tres especies:

1. La duración total y de cada estadio del ciclo de vida.
2. Los atributos morfológicos de cada estadio larval (talla) y peso del estado adulto.
3. La capacidad reproductiva; fecundidad, tasa de oviposición, fertilidad, tasa de eclosión de huevos, periodo de incubación de huevos, periodo de preoviposición y razón de sexos.
4. La sobrevivencia total y de cada estadio del ciclo de vida.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología de Ambientes Fragmentados del Departamento de Ciencias Biológicas Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, entre abril-julio del año 2011 y septiembre-noviembre del año 2012.

Se colectaron coccinélidos de las tres especies contempladas en este estudio usando redes entomológicas en alfalfa de la zona de Pirque (Región Metropolitana) y llevados al laboratorio donde cada especie fue depositada por separado en cajas de crianza de acrílico de 50 x 50 x 60 cm mantenidas en una pieza acondicionada a una temperatura de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $70\pm 8\%$ y fotoperíodo de 16:8 (L:O). Luego de que se aparearan, se extrajeron periódicamente huevos de las tres especies, los que fueron almacenados en placas Petri. Al momento de la eclosión, las larvas de cada especie fueron ubicadas de forma individual en placas Petri más pequeñas de 3,5 cm de diámetro x 0,5 cm de altura, debidamente identificadas. Estas fueron trasladadas a cámaras de crianza (modelo BIOREF-19L) con las mismas condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperíodo indicadas previamente, que son las que se usan generalmente en este tipo de experimentos (Etchégaray y Barrios, 1979). A cada larva se le proporcionó diariamente áfidos de la especie *A. pisum* (Harris) en cantidades *ad libitum* (i.e., que a las 24 horas hayan quedado individuos sin haber sido consumidos) acorde al estadio de desarrollo. Es decir, en el estadio larval I se entregó aproximadamente cinco individuos de *A. pisum* por larva, en el estadio larval II aproximadamente siete y, en el estadio larval III y IV, aproximadamente 10 (o más, según especie y tamaño). Para asegurar esta dieta, se realizaron crianzas de este áfido sobre plántulas de *Vicia faba* L. (haba). Adicionalmente, y para proveer las condiciones de humedad, a cada placa Petri se le agregó un algodón húmedo el que fue cambiado cada 48 horas.

Para la estimación de los parámetros de ciclo de vida, reproducción y sobrevivencia se manejó un número mínimo de 20 individuos por especie, partiendo con larvas de primer estadio. Se hizo un seguimiento diario del desarrollo de cada individuo, observando si este había mudado. Se llevó a cabo un registro del tiempo de duración del desarrollo en días de cada estadio y tamaño corporal (en mm), alcanzado al principio de cada estadio, estimado mediante un pie de metro digital (nivel de precisión de 0,02 mm).

Al momento de la emergencia del adulto, este fue inmediatamente pesado en una balanza de precisión (KERN & Sohn GmbH, en gramos, con una precisión de 0,1 mg). Luego se colocó un macho y una hembra en una placa Petri (9 cm de diámetro x 1 cm de altura) para permitir su apareamiento y reproducción. El número de parejas dependió de la cantidad de larvas que habían logrado llegar a la etapa adulta. Estas fueron alimentadas *ad libitum* con el áfido *A. pisum*. Se le agregó a la placa un algodón humedecido y una hoja de haba para proveerle a la hembra un sustrato para su eventual ovipostura.

El alimento, al igual que en estado preimaginal, fue renovado cada 24 horas y la placa Petri cambiada cada 48 horas para mantener limpio el hábitat experimental de las chinitas. Hubo un seguimiento de catorce días desde que la hembra ovipuso por primera vez, lo que permitió comparar la capacidad reproductiva de las tres especies durante un periodo similar. El día en que las hembras empezaron a oviponer luego de haber eclosionado como adultos fue considerado el tiempo en que ellas alcanzan su madurez sexual (o periodo de preoviposición). Por lo tanto, se hizo un recuento del número de huevos totales ovipuestos durante catorce días por cada hembra como manera de estimar la fecundidad y tasa de oviposición por cada hembra. Por otra parte, estos huevos también fueron depositados cuidadosamente en una nueva placa Petri y puestos a incubar en la misma cámara de crianza. Ello permitió estimar la fertilidad, esto es, el número de huevos que eclosionan del total de huevos ovipuestos por cada hembra, viabilidad de los huevos y periodo de incubación de estos.

La diferenciación sexual en este trabajo se realizó según tamaño y peso de los individuos. En muchas especies de coccinélidos, los machos son de menor tamaño que las hembras, con una pigmentación más clara en la porción anterior de la cabeza y antena levemente más larga (Honek, 1996). Sin embargo, es posible que se hayan cometido errores y haber puesto parejas de dos machos o de dos hembras. Por lo tanto, en los casos que no haya habido oviposición por parte de la hembra por un largo período de tiempo, los individuos fueron sexados mediante disección de sus genitales (Viera *et al.*, 2009). Cuando se constató el error, esa réplica no fue considerada en el análisis.

La sobrevivencia se evaluó como el número de individuos del total (proporción) que sobrevivió en cada estadio y en todo el ciclo de vida. Las larvas o pupas se consideraron muertas si al irritarse repetidamente con un pincel, estas no reaccionaron.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa de estadística STATA 10 (StataCorp., 2007). Se efectuaron análisis de varianza de una vía (ANDEVA) y test de Tukey HSD ($P < 0,05$) para evaluar el efecto de la especie sobre la duración (días) total y de cada estadio, talla de cada estadio y peso adulto fresco, luego de comprobar de que los datos mencionados cumplieren con los supuestos de ANDEVA. La fecundidad, tasa de oviposición y periodo de preoviposición se analizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis y Test de Dunn para la comparación de medias. Para comparar la sobrevivencia entre especies se utilizó el estimador Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, 1958) y el test de Log-Rank.

RESULTADOS

Duración del ciclo de vida

La duración total de estadios pre-imaginales (i.e., de estadio larvario I a la emergencia del coccinélido adulto) de las tres especies resultó ser significativamente diferente ($P < 0,001$), siendo la especie de *H. variegata* la que menos demoró en completar el ciclo, con una media ± 1 E.E de $21,06 \pm 0,37$ días y un mínimo de 18 y máximo de 25 días. Le siguió *H. axyridis* con una media de $22,56 \pm 0,38$ días (de 21 a 25 días) y por último *E. connexa*, con una media de $25,52 \pm 0,58$ días (de 22 a 33 días) (Tabla 1). La situación varía al analizar cada estadio. La duración de la larva estadio I no difirió significativamente entre especies ($F_{(2,81)} = 1,42$; $P = 0,248$), siendo para todas las especies alrededor de $3,56 \pm 0,08$ días. La duración del estadio de larva II varió entre especies ($F_{(2,78)} = 4,26$; $P = 0,018$), con una duración 1,2 veces mayor en *E. connexa* que en *H. axyridis*, en tanto que en *H. variegata* el tiempo fue un valor intermedio y estadísticamente similar a las otras dos especies. La duración del estadio de larva III fue significativamente mayor en *E. connexa* y *H. variegata* que en *H. axyridis* ($F_{(2,77)} = 14,86$; $P < 0,001$), siendo similar entre las dos primeras especies, con aproximadamente 1,5 más días que en *H. axyridis*. En el estadio de larva IV, *E. connexa* y *H. axyridis* tuvieron una duración similar y mayor que *H. variegata*, la que completó este estadio en aproximadamente 4 días ($F_{(2,65)} = 15,89$; $P < 0,001$). En el estadio de pre-pupa también hubo diferencias significativas entre especies ($F_{(2,62)} = 3,27$; $P = 0,045$), siendo *E. connexa* la que más demoró en terminar esta etapa, en tanto entre las otras dos no hubo diferencias significativas. En el estadio de pupa, *E. connexa* tardó un tiempo similar que *H. axyridis*, un tiempo significativamente mayor que *H. variegata* ($F_{(2,57)} = 11,60$; $P < 0,001$). Esta etapa, junto con el estadio larvario IV, fueron las de mayor duración dentro del desarrollo preimaginal, con un promedio de 30% y 21% de la duración total respectivamente, en tanto el estadio de menor duración fue el de pre-pupa, entre 1,2 y 1,7 días según la especie (Tabla 1).

Tabla 1 Duración en días (media \pm E.E) de cada estadio de desarrollo preimaginal y total (acumulado) de las especies *E. connexa* (*E.c.*), *H. variegata* (*H.v.*) y *H. axyridis* (*H.a.*), bajo condiciones de laboratorio.

| Estadios | Duración (días) | | |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | <i>E.c.</i> | <i>H.v.</i> | <i>H.a.</i> |
| Larva I | 3,41 \pm 0,13a n=27 | 3,63 \pm 0,13a n=27 | 3,65 \pm 0,14a n=30 |
| Larva II | 3,12 \pm 0,08a n=26 | 2,85 \pm 0,17ab n=26 | 2,52 \pm 0,17b n=29 |
| Larva III | 4,12 \pm 0,19a n=26 | 3,56 \pm 0,25a n=25 | 2,44 \pm 0,13b n=29 |
| Larva IV | 6,22 \pm 0,36a n=23 | 4,00 \pm 0,16b n=20 | 5,24 \pm 0,14a n=25 |
| Prepupa | 1,73 \pm 0,12a n=22 | 1,32 \pm 0,11b n=19 | 1,20 \pm 0,09b n=24 |
| Pupa | 7,33 \pm 0,30a n=21 | 5,72 \pm 0,16b n=18 | 7,67 \pm 0,31a n=21 |
| TOTAL | 25,52 \pm 0,58a n=21 | 21,06 \pm 0,37b n=18 | 22,56 \pm 0,38c n=22 |

*Diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey's HSD; $p \leq 0,05$).

Talla y peso corporal

En cuanto al tamaño corporal, este difiere según especie ($P < 0,001$ en todos los estadios). *Harmonia axyridis* es en general la especie con mayor talla, salvo en el estadio larval I que tiene similar tamaño a *E. connexa*, en tanto *H. variegata* es siempre la con menor talla; *E. connexa* alcanza tamaños intermedios. En el estadio IV, *E. connexa* y *H. axyridis* son 1,1 y 1,4 veces más grande que *H. variegata*, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2 Longitud (mm) (media \pm E.E) de cada estadio larval del desarrollo preimaginal de las especies *E. connexa* (*E.c.*), *H. variegata* (*H.v.*) y *H. axyridis* (*H.a.*).

| Estadios | Longitud (mm) | | |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Especies | | |
| | <i>E.c.</i> | <i>H.v.</i> | <i>H.a.</i> |
| Larva I | 1,89 \pm 0,05a n=30 | 1,59 \pm 0,03b n=30 | 1,96 \pm 0,04a n=26 |
| Larva II | 3,25 \pm 0,04b n=25 | 2,81 \pm 0,09c n=27 | 4,60 \pm 0,08a n=26 |
| Larva III | 4,69 \pm 0,10b n=25 | 4,08 \pm 0,10c n=26 | 6,34 \pm 0,11a n=25 |
| Larva IV | 6,61 \pm 0,10b n=25 | 5,93 \pm 0,07c n=24 | 8,28 \pm 0,17a n=25 |

*Diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey's HSD; $p \leq 0,05$).

El peso fresco promedio de los adultos combinando ambos sexos, fue significativamente diferente entre especies ($F_{(2,54)} = 254,68$; $P < 0,001$), siendo en *H. axyridis* tres veces mayor que en *E. connexa* y *H. variegata*, en tanto no hubo diferencias significativas entre estas últimas especies (Tabla 3). Estas diferencias se mantienen al analizar el peso dentro de cada sexo (hembra: $F_{(2,30)} = 522,29$; $P < 0,001$ y macho: $F_{(2,24)} = 149,13$; $P < 0,001$).

Tabla 3 Peso fresco (mg) (media \pm E.E) de los adultos de *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis*.

| Sexo | Peso fresco (mg) | | |
|--------|------------------|-----------------|-----------------|
| | Especies | | |
| | <i>E.c.</i> | <i>H.v.</i> | <i>H.a.</i> |
| Macho | 9,1 \pm 0,2b | 9,9 \pm 0,5b | 27,6 \pm 1,4a |
| Hembra | 11,1 \pm 0,4b | 12,4 \pm 0,4b | 35,7 \pm 0,9a |
| Total | 10,2 \pm 0,3b | 11,1 \pm 0,4b | 32,2 \pm 1,2a |

*Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey's HSD; $p \leq 0,05$).

Sobrevivencia

La curva de sobrevivencia del estimador Kaplan-Meier (Fig. 2) considera las probabilidades de sobrevivencia de días anteriores para estimar la probabilidad de cada día, es decir, es de tipo acumulativa y condicional y por ende, arroja una probabilidad de sobrevivencia más exacta para ese intervalo de tiempo. Al comparar las curvas de sobrevivencia de forma general, estas no variaron significativamente entre especies según el test de LogRank ($\chi^2 = 1,43$; $P = 0,4889$). Sin embargo, durante los primeros 15 días en estado larvario, *H. axyridis* alcanzó un porcentaje de

sobrevivencia mayor en relación a las otras dos especies, siendo esta diferencia más evidente sobre *H. variegata* que sobre *E. connexa* (Fig. 2). Luego de este período de 15 días, el patrón de sobrevivencia cambió, pasando a ser *E. connexa* la que mostró un porcentaje de sobrevivencia mayor a la de *H. axyridis* (Fig. 2).

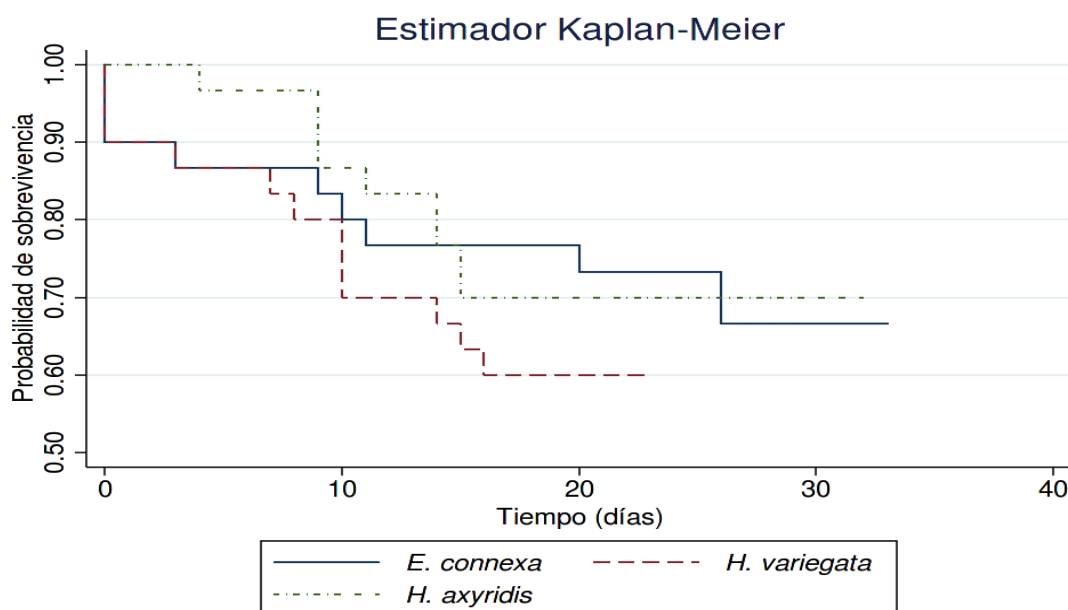


Fig. 2 Curvas de sobrevivencia de las tres especies *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis*. Se muestra la probabilidad de sobrevivencia acumulada.

Capacidad reproductiva

La fecundidad (número de huevos ovipuestos/hembra/14 días) resultó ser significativamente diferente entre especies ($\chi^2 = 18,71$; gl = 2; $P < 0,001$; Tabla 4), siendo más de 9 veces mayor en *H. axyridis* y *H. variegata* que en *E. connexa*. La tasa de oviposición (número de huevos ovipuestos/hembra/día) fue mayor en *H. axyridis*, seguida cercanamente por *H. variegata*, ambas con alrededor de 14 huevos diarios, en tanto *E. connexa* sólo ovipuso un poco más de un huevo diario, en promedio. Al graficar la dinámica de oviposición de las tres especies con un intervalo de confianza al 95% (Fig. 3), se observa que esta difiere entre especies. *Harmonia axyridis* ovipone la mayor cantidad de huevos durante los primeros días luego de alcanzar la

madurez sexual (periodo de preoviposición), alrededor de los días 4 y 5, con un promedio de 26,62 huevos/hembra/día; *H. variegata*, en cambio, aumenta más tardíamente y progresivamente su oviposición, con un mayor número de huevos ovipuestos a partir del día 7. Sin embargo, *H. axyridis* muestra grandes variaciones en cuanto al número de huevos ovipuestos por hembra y día, situación que no ocurre en *H. variegata*. Por último, *E. connexa*, muestra siempre una tasa de oviposición diaria relativamente baja (Fig. 3).

Tabla 4 Capacidad reproductiva: Fecundidad (número de huevos ovipuestos/♀/14 días), tasa de oviposición (huevos ovipuestos/♀/día), fertilidad, tasa de eclosión de huevos, periodo de incubación, periodo de preoviposición y razón de sexos de las especies *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis* (durante 14 días).

| Capacidad reproductiva (20°C/70±8%/16L:8O/A.pisum) | | | | | | | | |
|--|----|----------------|---------------------|------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| Especie | n | Fecundidad | Tasa de oviposición | Fertilidad | Tasa de eclosión de huevos | Periodo de Incubación (días) | Periodo de preoviposición (días) | Razón de sexos (m:h) |
| <i>E. c.</i> | 9 | 21,44 ± 6,2b | 1,53 ± 0,4c | — | — | — | 15 ± 1,8a | 1 : 1,33 |
| <i>H. v.</i> | 22 | 192,77 ± 20,2a | 13,77 ± 1,4b | 22 | 0.39 | 5,59 ± 0,1 | 7,14 ± 0,2b | 1 : 1 |
| <i>H. a.</i> | 13 | 197,38 ± 41,2a | 14,1 ± 1,2a | — | — | — | 13,38 ± 1,1a | 1 : 1,33 |

*Diferentes letras indican diferencias significativas (Test de Dunn; p≤0,05).

Fecundidad por día y por hembra

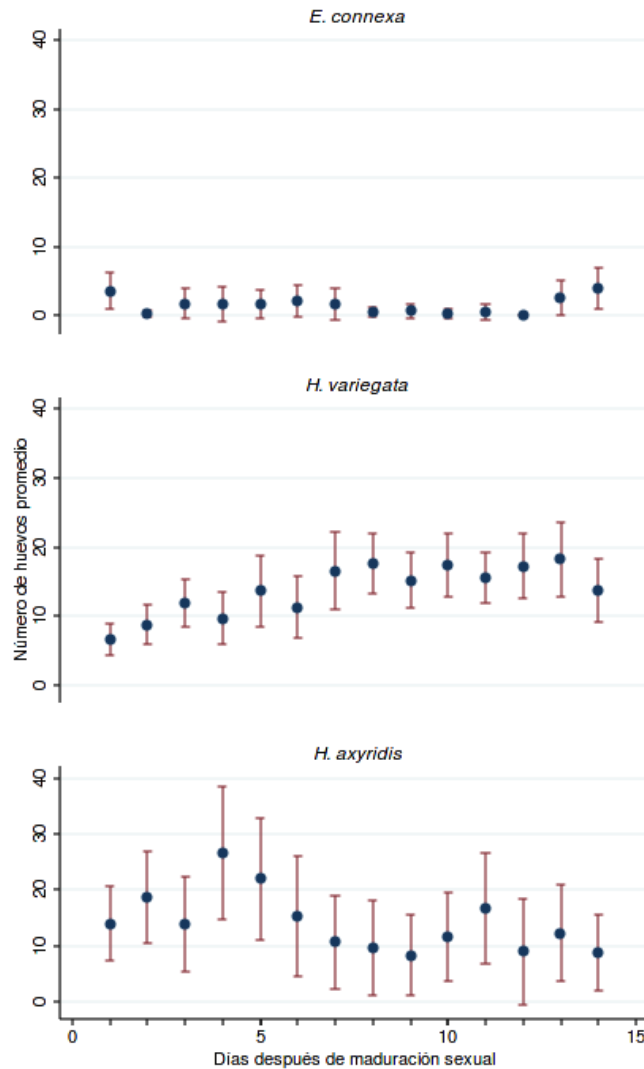


Fig. 3 Tasa de oviposición (número promedio de huevos ovipuestos/hembra/día) con respectivos intervalos de confianza (95%) de las especies *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis* durante 14 días.

Si bien el período de preoviposición (i.e., día en que las hembras llegan a estar sexualmente maduras desde la eclosión del adulto) varió según especies ($\chi^2 = 31,282$; $gl = 2$; $P > 0,001$), este no fue significativamente diferente entre *H. axyridis* y *E. connexa*, siendo $13,38 \pm 1,12$ y $15 \pm 1,8$ días para cada una de las especies, respectivamente. *Hippodamia variegata*, en tanto, fue la que con mayor rapidez alcanzó esta condición sexual, con un promedio de $7,14 \pm 0,22$ días.

Una menor proporción de machos que de hembras se registró en *H. axyridis* y *E. connexa*, con una razón de 1:1,33 para ambas especies. *Hippodamia variegata* en cambio, tuvo una razón de sexos de 1:1.

DISCUSIÓN

En esta Memoria de Título se logró estimar, bajo las mismas condiciones experimentales, variables de la duración del ciclo de vida, tamaños corporales, la sobrevivencia y la capacidad reproductiva de la especie nativa *E. connexa* y de las exóticas *H. variegata* y *H. axyridis*. Con ello, fue posible comparar y demostrar que efectivamente las exóticas tienen ventajas comparativas en estos atributos de historia de vida respecto a la nativa, bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio.

Duración del ciclo de vida

El estudio comparativo de las tres especies indica de que *H. variegata* es la que alcanza la etapa de adulto con mayor rapidez de las tres especies bajo estudio. Desde la eclosión del huevo hasta que emerge el adulto de la pupa, *H. variegata* lo logra en un promedio de $21,06 \pm 0,37$ días, *H. axyridis* demora dos días más y *E. connexa* cinco.

Los coccinélidos en etapa de adulto son considerados no palatables y por tanto, menos susceptibles para sus posibles depredadores (i.e., crisópidos, pentatómidos, reduviidos o arañas), debido a la presencia de mayores concentraciones de alcaloides tóxicos en adultos que en estado de larva (de Clercq *et al.*, 2003). Adicionalmente, la coloración del adulto también juega un rol de defensa hacia los depredadores (Dolenska *et al.*, 2009). Por lo anterior, *H. variegata* estaría sujeta a un menor periodo de susceptibilidad a los depredadores al alcanzar la etapa de adulto más rápido que las otras dos especies, lo cual significaría una ventaja competitiva respecto a *E. connexa* y *H. axyridis* al aumentar la probabilidad de sobrevivencia de la especie.

Al analizar más en detalle la duración de los diferentes estadios del ciclo de vida, *H. variegata* logra una duración menor en los estadios larvario IV y de pupa que las otras dos especies. Ello también sería una ventaja comparativa ya que en el estadio larvario IV es cuando la demanda por alimento es más alta dentro de los cuatro estadios larvarios. Es decir, *H. variegata* podría completar esta etapa rápidamente si el alimento está de forma abundante, no así *E. connexa* y *H. axyridis* que aun teniendo alimento en abundancia, como en este estudio, tardan más en completar el estadio larvario IV. Sin embargo, una desventaja de acortar la duración del estadio

larvario IV sería la de no suplirse de una mayor cantidad de nutrientes y energía para luego en la etapa de adulto maximizar la capacidad reproductiva, teniendo en cuenta que es en LIV cuando la larva alcanza una actividad de depredación más agresiva (Yasuda *et al.*, 2001).

Por otra parte, la duración menor del estado de pupa en *H. variegata* podría ser ventajoso desde el punto de vista de la sobrevivencia. Para los coccinélidos se ha descrito que, después del estadio larvario I y la etapa de huevo, la etapa de pupa es el periodo más vulnerable a factores ambientales y específicamente a la depredación (Omkar y Pervez, 2004b), de manera que las pupas de *H. variegata* estarían menos tiempo expuestas a estos factores de mortalidad que las otras dos especies.

Independientemente de esta diferencia interespecífica en la duración del estado de pupa, los estadios de larva IV y de pupa fueron los de mayor duración para todas las especies. Según Honek (1996), el estadio de larva IV debería abarcar alrededor del 40% del total de la duración del desarrollo pre-imaginal, en tanto Dixon (2000) menciona que la etapa de pupa sólo debería constituir el 20-25% de este total. Esto no se cumple en este trabajo, ya que se observa un porcentaje menor para el estadio larval IV, de alrededor del 20%, y un porcentaje mayor para la etapa de pupa, de alrededor del 30% para las tres especies, pero coincide con lo descrito por Rebolledo *et al.* (2009) para *H. variegata*, quienes registraron porcentajes similares a los descritos en este trabajo para el estadio larvario IV y etapa de pupa.

Lanzoni *et al.* (2004) también registraron una duración total del desarrollo pre-imaginal menor para *H. variegata* que para *H. axyridis* (15 y 17 días respectivamente). Esto sugiere que bajo cualquier condición ambiental de crianza (temperatura y dieta), *H. variegata* completaría el desarrollo pre-imaginal más rápido que *H. axyridis*.

Otras comparaciones de la duración de los estadios del desarrollo pre-imaginal registradas por diferentes autores y por el actual trabajo se registran en la Tabla 5. Como se puede observar, hay ciertas similitudes pero también algunas diferencias, probablemente debido a las distintas metodologías utilizadas en los distintos trabajos. Ello corrobora la importancia de haber realizado este estudio comparativo, manteniendo las mismas condiciones de crianza para las tres especies.

Tabla 5. Duración del desarrollo preimaginal (días, promedio y error estándar) en *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. connexa* registrado por diferentes autores y por este trabajo. En la primera columna se indican las referencias, variedades de especies (V) o tratamientos dentro de los experimentos; en la última columna las condiciones experimentales de temperatura, HR, fotoperiodo, dieta.

| Autores | <i>Harmonia axyridis</i> | | | | | Prepupa | Pupa | TOTAL | Observaciones |
|------------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|--------------|--|---------------|
| | LI | LII | LIII | LIV | | | | | |
| Saini (2004) | 2,2 ± 0,1 | 2,8 ± 0,1 | 3,4 ± 0,2 | 4,3 ± 0,2 | — | 4,1 ± 0,2 | ~15 ± 0,2 | 23,3 ± 2,8°C, Dieta: <i>Monellia caryella</i> . | |
| Soares <i>et al.</i> (2001) | | | | | | | | 20±1°C, 75±5%HR, 16L:8O | |
| V: <i>aulica</i> | 3,1 ± 0,07 | 2,3 ± 0,05 | 2,6 ± 0,06 | 4,7 ± 0,10 | 1,2 ± 0,04 | 6,3 ± 0,19 | 20,5 ± 0,36 | Dieta mixta: <i>Aphis phabae</i> , <i>Myzus persicae</i> y huevos <i>Ephestia kuehniella</i> . | |
| V: <i>nigra</i> | 3,2 ± 0,08 | 2,1 ± 0,05 | 2,5 ± 0,28 | 4,7 ± 0,10 | 1,0 ± 0,03 | 6,2 ± 0,07 | 20,0 ± 0,21 | | |
| Lanzoni <i>et al.</i> (2004) | 2,3 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | 4,7 ± 0,1 | — | 6,6 ± 0,1 | ~17 | 25 ± 1°C, 60-80% HR, 16L:8O. Dieta: <i>M. persicae</i> | |
| Presente trabajo | 3,7 ± 0,14 | 2,5 ± 0,17 | 2,4 ± 0,13 | 5,2 ± 0,14 | 1,2 ± 0,09 | 7,7 ± 0,31 | 22,6 ± 0,38 | 20°C, 70±8%HR, 16L:8O. Dieta: <i>A.pisum</i> | |
| <i>Hippodamia variegata</i> | | | | | | | | | |
| El Habi <i>et al.</i> (2000) | | | | | | | | | |
| 18°C | 3,5 ± 0,5 | 2,75 ± 0,43 | 4 ± 0,81 | 6,83 ± 1 | — | 10,5 ± 1,03 | 27,58 ± 1,02 | 65-75% HR, Dieta: <i>Aphis gossypii</i> | |
| 22°C | 2,6 ± 0,48 | 1,4 ± 0,58 | 1,6 ± 0,48 | 2,4 ± 0,39 | — | 4,66 ± 0,47 | 12,66 ± 0,53 | | |
| Sarhan <i>et al.</i> (2011) | | | | | | | | | |
| A. | | | | | | | | | |
| <i>craccivora</i> | 3,2 ± 0,1 | 1,8 ± 0,13 | 2,20 ± 0,1 | 2,67 ± 0,12 | 1,0 ± 0,08 | 3,87 ± 0,09 | ~15 ± 0,19 | 25±1°C, 60±10% HR, 12L:12O | |
| <i>H. pruni</i> | 3,6 ± 0,12 | 2,6 ± 0,13 | 2,73 ± 0,11 | 3,53 ± 0,13 | 1,0 ± 0,09 | 3,53 ± 0,13 | ~18 ± 0,19 | | |
| <i>R. padi</i> | 3,6 ± 0,13 | 2,33 ± 0,13 | 1,73 ± 0,11 | 3,73 ± 0,11 | 1,0 ± 0,09 | 3,6 ± 0,13 | ~20 ± 0,20 | | |

| | | | | | | | | |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--|
| Rebolledo <i>et al.</i> (2009) | | Desarrollo larval (7.98 ± 0,73) | | | — | 6,27 ± 0,45 | ~15 | 21±2°C, 70±8% HR, 16L:8O, Dieta: <i>A. pisum</i> |
| Lanzoni <i>et al.</i> (2004) | 2,6 ± 0,1 | 1,9 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | 2,9 ± 0,1 | — | 6,1 ± 0,1 | ~15.5 | 25 ±1°C, 60-80% HR, 16L:8O. Dieta: <i>M. persicae</i> |
| Presente trabajo | 3,6 ± 0,13 | 2,85 ± 0,17 | 3,56 ± 0,25 | 4,00 ± 0,16 | 1,32 ± 0,11 | 5,72 ± 0,16 | 21,06 ± 0,37 | 20°C, 70±8%, 16L:8O, Dieta: <i>A.pisum</i> |
| <i>Eriopsis connexa</i> | | | | | | | | |
| Etchégaray y Barrios (1979) | 7,47 ± 0,58 | 3,59 ± 0,84 | 3,16 ± 0,46 | 2,13 ± 1,34 | — | 8,39 ± 0,95 | ~24,74 | 20±1°C, 75% HR, 16L:8O, Dieta: <i>M. euphorbiae</i> |
| Gyenge <i>et al.</i> (1998) | 4,4 ± 0,2 | 3,1 ± 0,2 | 3,8 ± 0,1 | 7,8 ± 0,3 | — | 7,8 ± 0,2 | 27,0 ± 0,5 | 19±1,3°C, 16L:8O, Dieta: <i>A.pisum</i> |
| Presente trabajo | 3,41 ± 0,13 | 3,12 ± 0,08 | 4,12 ± 0,19 | 6,22 ± 0,36 | 1,73 ± 0,12 | 7,33 ± 0,30 | 25,52 ± 0,58 | 20°C, 70±8%HR, 16L:8O, Dieta: <i>A.pisum</i> |

Talla y peso corporal

En los estadios LII, LIII y LIV, *H. variegata* fue la especie de menor talla, *H. axyridis* la de mayor y *E. connexa* tuvo una longitud intermedia. En el estadio de LI, *E. connexa* y *H. axyridis* alcanzaron una talla similar entre sí y mayor que *H. variegata*. Este orden de tamaños dentro de las tres especies coincide con lo descrito en la literatura, aunque al comparar los tamaños de LI descritos por Sasaji (1977) para *H. axyridis* con los reportados por Etchégaray y Barrios (1979) para *E. connexa*, la primera especie es de mayor tamaño que la segunda (Tabla 6).

Las mayores tallas de los estadios larvales de *H. axyridis* en relación a las otras dos especies puede llegar a ser una ventaja competitiva, particularmente en el estadio LIV que se caracteriza por una fuerte actividad depredadora (Yasuda *et al.*, 2001). Con la excepción del estadio LI, *H. axyridis* es un competidor y depredador intragremio dominante, estableciendo interacciones asimétricas con otras especies de coccinélidos, probablemente facilitado por su mayor tamaño corporal (Yasuda *et al.*, 2001).

Tabla 6. Longitudes (mm, media \pm E.E) alcanzadas por *E. connexa*, *H. variegata* y *H. axyridis* en los cuatro estadios larvares del desarrollo pre-imaginal, según otros autores y este trabajo.

| Estadios | <i>Eriopsis connexa</i> | | <i>Hippodamia variegata</i> | | <i>Harmonia axyridis</i> | |
|----------|-----------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| | Etchégaray y Barrios (1979) | Presente trabajo | Rebolledo <i>et al.</i> (2009) | Presente trabajo | Sasaji (1977) | Presente trabajo |
| LI | 2,59 \pm 0,26 | 1,89 \pm 0,05 | 1,64 \pm 0,56 | 1,59 \pm 0,03 | 1,9 – 2,1 | 1,96 \pm 0,04 |
| LII | 3,48 \pm 0,24 | 3,25 \pm 0,04 | 2,28 \pm 0,27 | 2,81 \pm 0,09 | — | 4,6 \pm 0,08 |
| LIII | 4,59 \pm 0,53 | 4,69 \pm 0,10 | 4,07 \pm 0,45 | 4,08 \pm 0,10 | — | 6,34 \pm 0,11 |
| LIV | 7,01 \pm 0,62 | 6,61 \pm 0,10 | 6,57 \pm 0,44 | 5,93 \pm 0,07 | 7,5 – 10,7 | 8,28 \pm 0,17 |

En cuanto al peso fresco del adulto, este llega a ser 3 veces mayor en *H. axyridis* que en las otras dos especies, las que no difieren entre sí. En cualquier condición, ya sea peso fresco del adulto según sexo o peso fresco del adulto combinando ambos sexos, *H. axyridis* es la especie más pesada. Es sabido que el número de ovariolas es mayor en especies más grandes y que el número de huevos ovipuestos está positivamente correlacionado con el número de ovariolas, con la longitud y el peso corporal (Nedved y Honek, 2012). Por tanto, la característica de *H. axyridis* de ser más pesada y grande podría conferirle a esta especie exótica la ventaja de tener

un mayor número de ovariolas y por ende ser más fecunda.

Sobrevivencia

Según Omkar y Pervez (2004b), la mortalidad de coccinélidos es máxima en el estadio LI, mínima en etapa de prepupa y mediana en la etapa de pupa. Sin embargo, esto no ocurrió en este trabajo ya que la mortalidad en el estadio LI fue mínima para las tres especies. Esto probablemente se debe a que bajo las condiciones controladas de laboratorio, donde no hay depredadores y el alimento es ofrecido de forma *ad libitum*, no existen factores significativos de estrés que afecten la sobrevivencia.

La sobrevivencia total registrada para las tres especies durante el desarrollo pre-imaginal no varió significativamente entre especies. Durante los primeros días de larva, *H. variegata* y *E. connexa* tienen un porcentaje de sobrevivencia similar (alrededor del 90%). Sin embargo, luego de estos primeros días, *H. variegata* presenta un porcentaje de sobrevivencia menor que las otras dos especies. Por otra parte, *H. axyridis* tuvo una sobrevivencia mayor que las otras especies sólo durante los primeros quince días para luego ser sobrepasada en la sobrevivencia por *E. connexa*. A pesar de que las larvas de *H. axyridis* demostraron ser más resistentes a factores ambientales estresantes durante el desarrollo pre-imaginal que *H. variegata* y *E. connexa*, la etapa de pupa presentaría cierta vulnerabilidad, según lo registrado por este trabajo. Habría un alcaloide, un polyazamacrólido, considerado una de las principales secreciones del tegumento de la pupa de la especie *Epilachna varivestis* que jugaría un rol importante en defender el estado de pupa de potenciales depredadores. Sin embargo, este alcaloide demostró tener un efecto contrario en la pupa de *H. axyridis* (Rossini *et al.*, 2000).

En suma, los resultados de sobrevivencia sugieren que *H. variegata* presentaría una desventaja evidente durante el desarrollo pre-imaginal mientras que *H. axyridis* poseería una ventaja sólo durante los estadios larvales, no así en etapa de pupa y *E. connexa* tendría una sobrevivencia intermedia en comparación a las especies exóticas. Sin embargo, las diferencias no son significativas por lo que la sobrevivencia no sería un factor determinante de éxito relativo de estas especies.

Capacidad reproductiva

Bajo las condiciones de laboratorio con las cuales se trabajó, *H. variegata* fue la que alcanzó la madurez sexual más prontamente, es decir, el periodo de pre-oviposición fue más corto para esta especie, empezando a oviponer alrededor de 7 días antes que *E. connexa* y *H. axyridis*, las que registraron un periodo de pre-oviposición similar de 14 días, aproximadamente. Sin embargo, *H. variegata* empezó a oviponer un mayor número de huevos a partir del día 7, luego de la primera oviposición y alcanzar su madurez sexual. Esto podría significar de que quizás el alcanzar esta condición sexual más tempranamente no sea del todo ventajoso para esta especie.

Adicionalmente, se observó que *H. axyridis* fue la que ovipuso un mayor número de huevos/día en relación a *H. variegata* y *E. connexa*. Sin embargo, *H. axyridis* presentó un rango de huevos ovipuestos por hembra/día muy amplio, llegando a oviponer 40 ó 20 huevos al día. En cambio, *H. variegata* tuvo una tasa de oviposición más uniforme. Lanzoni *et al.* (2004) reportaron curvas de tasas de oviposición similares a los registrados por este trabajo, con mayor homogeneidad en *H. variegata*, por lo que es posible que a largo plazo *H. variegata* sea capaz de oviponer un mayor número de huevos que *H. axyridis*, lo cual le conferiría una ventaja de crecimiento poblacional en el campo.

Duarte y Zenner (2009) señalaron que el periodo de mayor oviposición en *E. connexa* se ubica entre los 27,5 y 72,5 días de edad de las hembras, con picos de oviposición a los 37,5 y 57,5 días. Este dato podría ser de relevancia dado el caso de que durante los 14 días de medición de capacidad reproductiva de *E. connexa* en este estudio, la fecundidad y tasa de oviposición resultaron ser más bajas que las registrada por estos autores. Lo anterior sugiere que los resultados reproductivos obtenidos en este trabajo podrían estar subestimando la capacidad reproductiva de *E. connexa*, ya que esta mostraría mayor actividad de oviposición más tardíamente.

Con respecto a la fecundidad, esta fue similar para *H. axyridis* y *H. variegata*, lo cual coincide con lo reportado por Lanzoni *et al.* (2004). Por su parte, *E. connexa* tuvo una fecundidad 10 veces menor que las dos especies exóticas, ubicando a esta especie nativa en una posición desventajosa en cuanto al potencial crecimiento poblacional.

A pesar de que la razón de sexo en *E. connexa* resultó ser de 1:1,33 (machos:hembras), al igual que para *H. axyridis*, para *H. variegata* fue de 1:1. Un mayor número de hembras

que de machos significaría un mayor número de progenie y por tanto, mayor éxito para establecerse en el campo. Sin embargo, esta ventaja no ejercería efecto significativo para *E. connexa* considerando la alta fecundidad, tasa de oviposición y corto periodo de pre-oviposición que caracterizan a las especies exóticas *H. variegata* y *H. axyridis*. Por otro lado, la proporción mayor de hembras podría ser ventajosa para *H. axyridis* sobre *H. variegata*.

En los experimentos de este estudio, los huevos ovipuestos por *H. axyridis* y *E. connexa* resultaron ser inviables. Luego de largo tiempo sin observar eclosión de ninguno de los huevos ovipuestos por ambas especies, estos cambiaron de color (de color amarillo brillante a un amarillo pálido) y de estructura (de turgentes y globosos a un aspecto arrugado), situación que no ocurre en huevos que son viables. Por ello, los parámetros de fertilidad, tasa de eclosión de huevos y período de incubación no llegaron a ser cuantificados e imposibilitó el estudio comparativo de estos parámetros en las tres especies de coccinélidos. Se desconocen las causas que podrían haber generado tales efectos reproductivos sobre las especies afectadas. Ello podría atribuirse al manejo de los huevos al trasladarlos de una placa petri a otra. No obstante, este manejo fue el mismo para las tres especies y aún así se obtuvieron huevos viables en *H. variegata*, por lo que se descarta esta posible causa de infertilidad de los huevos de *E. connexa* y *H. axyridis*.

Como se mencionó en la revisión bibliográfica, existen los llamados huevos tróficos que son huevos infértiles que se oviponen a favor de las larvas de estadio I que pudiesen tener problemas en encontrar presas esenciales (i.e., áfidos). Esta sería una estrategia materna activa en *H. axyridis* (Perry y Roitberg, 2005). Se plantea, por lo tanto, la hipótesis de que las hembras de *H. axyridis* y *E. connexa* hubiesen percibido algún factor en el hábitat que determinaran un lugar inestable o de vulnerabilidad para su progenie, oviponiendo en su totalidad huevos tróficos y no huevos viables. Es posible de que el estado de los áfidos que se les ofrecía a cada pareja (a pesar de que el alimento fue renovado cada 24 horas) no era del todo óptimo o ideal para la normal función de los procesos biológicos reproductivos de estas especies de coccinélidos. Sin embargo, esto es poco plausible dado que ello no ocurrió en *H. variegata* que tuvo el mismo manejo. Todo parece indicar que *H. variegata* es más exitosa que las otras dos especies en cuanto a su fertilidad.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio, los resultados obtenidos sugieren de que *E. connexa* tendría desventajas comparativas respecto a las especies exóticas en cuanto a los aspectos biológicos estudiados, demorándose más en alcanzar el estado adulto, teniendo una menor fecundidad, una menor tasa de oviposición y demorándose más en comenzar a oviponer, lo cual podría ser parte de las causas de la disminución en los últimos años de su abundancia relativa, en comparación con las especies exóticas *H. variegata* y *H. axyridis*.

BIBLIOGRAFÍA

ARTIGAS J. 1994. Entomología Económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario vol. 2. Ediciones Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 993p.

de CLERCQ, P; PETERS, I; VERGAUWE, G; THAS, O. 2003. Interaction between *Podisus maculiventris* and *Harmonia axyridis*, two predators used in augmentative biological control in greenhouse crops. *BioControl* 48: 39-55.

DIXON, A. 2000. Insect predator-prey dynamics: Ladybird beetles and biological control. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 258 p.

DOLENSKA, M; NEDVED, O; VESELY, P; TESAROVA, M; FUCHS, R. 2009. What constitutes optical warning signals of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) towards bird predators: colour, pattern or general look?. *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 234- 242.

DUARTE, G; ZENNER, I. 2009. Tabla de vida del cucarrón depredador *Eriopis connexa connexa* (Germar) (Col: Coccinellidae). U.D.C.A. Actualidad y Divulgación Científica 12: 147- 155.

EL HABI, M; SEKKAT, A; EL JADD, L; BOUMEZZOUGH, A. 2000. Biology of *Hippodamia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae) and its suitability against *Aphis gossypii* Glov (Homptera: Aphididae) on cucumber under greenhouse conditions. *Journal of Applied Entomology* 124: 365-374.

ETCHÉGARAY, J.; BARRIOS, S. 1979. Ciclo de vida de *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae). *Anales del Museo de Historia Natural* 12: 185-194.

GONZÁLEZ, G. 2006. Lista actualizada de especies de Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile. [en línea]

<<http://coccinellidae.cl/paginasWebChile/PDFs/Lista%20Coccinellidae%20de%20Chile%2001%2008%202010.pdf>> [consulta: 30-06-2011]

GREZ, A; ZAVIEZO, T; DÍAZ, S; CAMOUSSEIGT, B; CORTÉS, G. 2008. Effects of habitat loss and fragmentation on the abundance and species richness of aphidophagous beetles and aphids in experimental alfalfa landscapes. *European Journal of Entomology* 105: 411-420.

- GREZ, A.; ZAVIEZO, T.; GONZÁLEZ, G.; ROTHMAN, S. 2010. *Harmonia axyridis* en Chile: una nueva amenaza. *Ciencia e Investigación Agraria* 37: 145-149.
- GREZ, A.A.; VIERA, B.; SOARES, A.O. 2012. Biotic interactions between *Eriopis connexa* and *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae), a native and an exotic species associated with alfalfa fields in Chile. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 142: 36-44.
- GYENGE, J.; EDELSTEIN, J.; SALTO, C. 1998. Efectos de la temperatura y la dieta en la biología de *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 345-356.
- HADDRILL, P; SHUKER, D; MAYES, S; MAJERUS, M. 2007. Temporal effects of multiple mating on components of fitness in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 104: 393-398.
- HODEK, I; CERYNGIER, P. 2000. Sexual activity in Coccinellidae (Coleoptera): a review. *European Journal of Entomology* 97: 449-456.
- HONEK, A. 1996. Life history and development. In: Hodek, I; Honek, A. (Eds.). *Ecology of Coccinellidae*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 61-93.
- KAJITA, Y. 2008. Reproductive tactics of aphidophagous lady beetles: Comparison of a native species and an invasive species that is displacing it. Doctorate Thesis in Ecology. Utah, USA. Utah State University.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association* 53(282): 457-481.
- KONTODIMAS, D.; STATHAS, G. 2004. Phenology, fecundity and life table parameters of the predator *Hippodamia variegata* reared on *Dysaphis crataegi*. *BioControl* 50: 223-233.
- KUZNETSOV, V. 1997. Lady beetles of Russian far East. Gainesville, FL: Memoir Seis Editor, CSE.
- LANZONI, A.; ACCINELLI, G.; BAZZOCCHI, G.; BURGIO, G. 2004. Biological traits and life table of the exotic *Harmonia axyridis* compared with *Hippodamia variegata* and *Adalia bipunctata* (Col., Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology* 128: 298-

306.

LOMBAERT, E; MALAUSA, T; DEVRED, R; ESTOUP, A. 2008. Phenotypic variation in invasive and biocontrol populations of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*. *BioControl* 53: 89-102.

NAKANISHI, K; HOSHINO, M; NAKAI, M; KUNIMI, Y. 2008. Novel RNA sequences associated with late male killing in *Homona magnanima*. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* 275: 1249-1254.

NEDVED, O; HONEK, A. 2012. Life history and development. In: Hodek, I; Van Emden, H.F; Honek, A. (Eds.). *Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae)*. Wiley- Blackwell UK. pp. 54-109.

OMKAR, N; PERVEZ, A. 2004b. Temperature-dependent development and immature survival of an aphidophagous ladybeetle, *Propylea dissecta* (Mulsant). *Journal of Applied Entomology* 128: 510-514.

PERRY, J; ROITBERG, B. 2005. Ladybird mothers mitigate offspring starvation risk by laying trophic eggs. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 58: 578-586.

QUIROZ, C.E; LARRAÍN, P.S.; SEPÚLVEDA, P.R. 2005. Abundancia estacional de insectos vectores de virosis en dos ecosistemas de pimientos (*Capsicum annum* L.) de la Región de Coquimbo, Chile. *Agricultura Técnica* 65: 3-19.

REBOLLEDO, R; SHERIFF, J; PARRA, L; AGUILERA, A. 2009. Ciclo vital, estacional y fluctuación poblacional de *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae), en el Llano central de La Araucanía, Chile. *Chilean Journal of Agricultura Research* 69: 292-298.

REED, D.; PIKE, K. 1991. Summary of an exploration trip to Southamerica. *International Organization for Biological Control, Nearctic Regional Section Newsletter* 36: 16-17.

ROJAS, S. 2005. Control biológico de plagas en Chile: historia y avances. Colección Libros INIA 12, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago. 123p.

ROMERO, R; CUEVA, M; OJEDA, P. 1974. Morfología, ciclo biológico y comportamiento de *Scymnus* (Pullus) sp. (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Peruana de*

Entomología 17: 42-47.

ROSSINI, C; GONZÁLEZ, A; FARMER, J; MEINWALD, J; EISNER, T. 2000. Antiinsectan activity of epilachnene, a defensive alkaloid from pupae of Mexican bean beetles (*Epilachna varivestis*). *Journal of Chemical Ecology* 26: 391-397.

ROY, H; RUDGE, H; GOLDRICK, L; HAWKINS, D. 2007. Eat or be eaten: prevalence and impact of egg cannibalism on two-spot ladybirds, *Adalia bipunctata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 125: 33-38.

ROY, H.; WAJNBERG, E. (Eds.). 2008. From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia axyridis* as a model species. Springer, UK. 1-4pp.

SAINI, E. 2004. Presencia de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) en la provincia de Buenos Aires. Aspectos biológicos y morfológicos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 33: 151-160.

SARHAN, A; MANDOUR, N; EL-BASHA, N; ABDEL-MOTAAL, D. 2011. Effect of different preys on immature and adult stages of *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 21: 297-304.

SASAJI, H. 1977. Larval characters of Asian species of the genus *Harmonia* Mulsant. *Memoir of the Faculty of Education Fukui University Series II Natural Science* 27: 1-17.

SOARES, A; CODERRE, D; SCHANDERL, H. 2001. Fitness of two phenotypes of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 98: 287-293.

STATA Corp. 2007. *Stata Statistical Software: Release 10*. College station, TX: StataCorp LP.

STEWART, L.; DIXON, A.; RUZICKA, Z.; IPERTI, G. 1991a. Clutch and egg size in ladybird beetles. *BioControl* 36: 329-333.

STEWART, L.; HEMPTINNE, J.; DIXON, A. 1991b. Reproductive tactics of ladybird beetles: relationships between egg size, ovariole number and developmental time. *Functional Ecology* 5: 380-385.

TAKAHASHI, K. 1987. Differences in oviposition initiation and sites of lady beetles, *Coccinella septempunctata bruckii* Mulsant and *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in the field. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 31:

253-254.

VIERA, B.A; GREZ, A.A; SOARES, A.O. 2009. Depredación intragremio y canibalismo entre el coccinéido exótico *Hippodamia variegata* (Goeze) y el nativo *Eriopis connexa* (Germar): Mecanismos para su coexistencia. In: Anais de III Congreso Latino Americano de Ecología. San Lorenzo MG, Brasil. 10-13 septiembre 2009. Sociedad de Ecología de Brasil. pp. 1-3.

YASUDA, H; KIKUCHI, T; KINDLMANN, P; SATO, S. 2001. Relationships between attack and escape rates, cannibalism, and intraguild predation in larvae of two predatory ladybirds. *Journal of Insect Behaviour* 14: 373-384.

ZAVIEZO, T; GREZ, A; ESTADES, C; PÉREZ, A. 2006. Effects of habitat loss, habitat fragmentation, and isolation on the density, species richness, and distribution of ladybeetles in manipulated alfalfa landscapes. *Ecological Entomology* 31(6): 646-656.