

UCM-Fc  
MAG-EDE  
6643  
C.1

Depredación intragremio de  
coccinélidos en alfalfaes de Chile  
Central: una evaluación por medio de  
análisis molecular de contenido  
estomacal

Tesis

Entregada A La  
Universidad De Chile  
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos  
Para Optar Al Grado De

Magíster en Ciencias Biológicas  
Mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad De Ciencias

Por

Carlos Iván González Céspedes

Enero 2018

Director de Tesis Dra: Audrey Alejandra Grez V.  
Co-Directora de Tesis: Dra. Tania Zaviezo

FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE  
INFORME DE APROBACION  
TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato.

Carlos Iván González Céspedes

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 14 de diciembre del 2017.

Directora de Tesis:  
Dra. Audrey Grez

.....

Co-Directora de Tesis:  
Dra. Tania Zaviezo

.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Ramiro Bustamante (P)

.....

Dr. Claudio Veloso

.....

Handwritten signatures in blue ink are present over the dotted lines for the Director of Thesis, Co-Director of Thesis, and the members of the Thesis Evaluation Commission. The signatures are somewhat stylized and overlapping.

*“El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad.”*

*Victor Hugo*

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer a la profesora Audrey Grez por su constante ayuda y enseñanza en este proceso de aprendizaje, a la profesora Tania Zaviezo por sus contribuciones al desarrollo de esta investigación, al Programa de Postgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Chile y al financiamiento otorgado por el proyecto FONDECYT 1140662, quienes han permitido la realización de este trabajo de tesis para la obtención del grado de Magister en Ciencias Biológicas.

Además, cabe mencionar la colaboración recibida por el Instituto de Ecología Molecular de la Universidad de Talca, al Laboratorio de Ecología Molecular de la Pontificia Universidad Católica y a todos los que fueron, son y serán parte del Laboratorio de Ecología de Ambientes Fragmentados de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Agradezco especialmente a Elizabeth Gazzano, por su disposición y apoyo en el trabajo de campo y laboratorio.

Finalmente a mis amigos, mi familia, mi pareja a todos los que forman parte de mi mundo, a todos los que me han enseñado algo , a todos los que han dedicado una palabra de aliento, un comentario, una sonrisa o un abrazo a todos ustedes les digo gracias.

## Índice de Contenido

Índice de Contenido .....	ii
Índice de Tablas .....	iii
Índice de Figuras .....	iv
Resumen.....	v
Abstract .....	vi
Introducción .....	1
Materiales y Métodos.....	7
Resultados .....	12
Discusión.....	17
Conclusión .....	22
Bibliografía .....	24

## Índice de Tablas

Tabla 1.....	12
Tabla 2.....	14
Tabla 3.....	15
Tabla 4.....	15

## Índice de Figuras

Figura 1.....	13
Figura 2.....	16
Figura 3.....	23

## Resumen

La depredación intragremio (DIG) es una interacción frecuente en coccinélidos afidófagos, y es considerada una de las posibles causas de la disminución de la abundancia de otros coccinélidos luego de la invasión de *Harmonia axyridis* (*Ha*), dado que la DIG sería asimétrica en favor de ella. En alfalfaes de Chile Central, luego de la llegada de esta especie invasora se produjo una disminución significativa de la riqueza y abundancia de coccinélidos, especialmente nativos. En este estudio, evaluamos, por medio de análisis molecular de contenido estomacal, la intensidad, dirección y simetría de la DIG entre *H. axyridis* la especie exótica *Hippodamia variegata* (*Hv*) y la nativa *Eriopis chilensis* (*Ec*), los tres coccinélidos más comunes que coexisten temporal y espacialmente en alfalfaes de la zona central del país. Evaluamos, además, la relación entre la intensidad de DIG y la abundancia de presas extra (áfidos) e intragremio (otros coccinélidos). Nuestros resultados indican que *Ha* es el depredador intragremio más frecuente, que depreda con mayor frecuencia sobre *Ec* y que esto ocurre independientemente de la densidad de áfidos. La disponibilidad de áfidos y la abundancia de *Ha* se asocian positivamente con la intensidad de la DIG para algunas combinatorias de depredador-presa (*Ec* sobre *Ha* y sobre *Hv*, *Ha* sobre *Hv* y *Hv* sobre *Ha*). Estos resultados sugieren que la DIG de *Ha* puede ser una de las causas directas de la disminución de los coccinélidos nativos en alfalfaes de Chile central.

## Abstract

Intraguild predation (IGP) is a frequent interaction among aphidophagous coccinelids and is considered as one of the possible causes of the decrease of the abundance of other coccinelids after the invasion of *Harmonia axyridis* (*Ha*), because of the asymmetric IGP in her favour. In alfalfa fields of central Chile, after the arrival of this invasive species, it produces a significant decrease of the abundance and richness of the coccinelids, specially natives. In this study, we evaluated, using molecular analysis of gut content, the intensity, direction and symmetry of the IGP between *H. axyridis* the exotic species *Hippodamia variegata* (*Hv*) and the native *Eriopis chilensis* (*Ec*), the three most common coccinelids that coexists temporally and spatially in the alfalfa field of the central zone of the country. We evaluated, also, the relation between the intensity of IGP with the extraguild (aphids) and intraguild (other coccinelids) prey abundance. Our results indicate that *Ha* is the most frequent intraguild predator, that predate in more frequencies over *Ec* and that this happens regardless of the density of aphids. The availability of aphids and the abundance of *Ha* are possibly associated to the intensity of the IGP for some predator- prey combinatory (*Ec* over *Ha* and over *Hv*, *Ha* over *Hv* and *Hv* over *Ha*). This results suggest that the IGP of *Ha* can be one of the direct causes of the decrease of the native coccinelids in the alfalfa field of central Chile.

## Introducción

Los coccinélidos son conocidos por estar entre los principales depredadores de áfidos (Hemiptera: Aphididae), y por ello han sido introducidos en muchas partes del mundo como agentes de control biológico (Obrycki *et al.*, 2000; Van Lenteren *et al.*, 2003; Losey & Vaughan, 2006). Sin embargo, debido a sus características como depredadores generalistas, su introducción puede llevar a interacciones antagonistas con especies residentes, entre ellas especies nativas (Brown 2004; Majerus *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2008; Hodek *et al.*, 2012; Hoki *et al.*, 2014). *Harmonia axyridis* (Pallas) es una especie de coccinélido que ha sido introducida en numerosos países, tanto de manera accidental como deliberada (Koch *et al.*, 2006; Lombaert *et al.*, 2014). Luego de su introducción, esta especie se ha vuelto el coccinélido dominante en diversos hábitats (Honek *et al.*, 2015; Lombaert *et al.*, 2014). Numerosos estudios han demostrado una correlación negativa entre la abundancia de coccinélidos afidófagos nativos y la abundancia de *H. axyridis*, lo que sugiere que la presencia de esta especie, a lo menos parcialmente, es la causa del declive observado en coccinélidos afidófagos nativos (Felix & Soares, 2004; Ingels & De Clercq, 2011; Brown *et al.*, 2011a, 2011b, 2014; Katsanis *et al.*, 2012; Roy *et al.*, 2012; Bahlai *et al.*, 2015). Esta disminución es asociada principalmente a interacciones negativas, como la competencia interespecífica, la transmisión de patógenos y la depredación intragremio (DIG) (Elliot *et al.*, 1996; Evans, 2004; Evans *et al.*, 2011; Roy & Brown, 2015). La DIG corresponde a la depredación entre especies que consumen un mismo recurso (Polis, 1981; Lucas *et al.*, 1998; Polis *et al.*, 1989). Ella puede ser

caracterizada según su dirección, simetría e intensidad (Polis *et al.*, 1989; Lucas *et al.*, 1998; Félix & Soares, 2004; Trotta *et al.*, 2015). La dirección alude a la identidad de la especie que actúa como depredador y a la que es presa, pudiendo ser unidireccional cuando un miembro del gremio es siempre consumido (Polis *et al.*, 1989; Lucas *et al.*, 1998; Félix & Soares, 2004; Trotta *et al.*, 2015), o bidireccional, cuando ambos pueden ser presa o depredador (Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Trotta *et al.*, 2015). La DIG bidireccional puede ser simétrica o asimétrica, siendo asimétrica cuando una especie presenta una mayor frecuencia de depredación sobre otros; en caso contrario la interacción es considerada como simétrica (Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Trotta *et al.*, 2015). Finalmente, la intensidad se refiere a la proporción de casos en que se produce DIG (Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Trotta *et al.*, 2015). Estas características de la DIG pueden estar condicionadas por el tamaño corporal relativo de las especies de coccinélidos interactuando, la especificidad de alimentación y hábitat, o la movilidad de las presas. Generalmente, los depredadores de mayor tamaño son quienes consumen a aquellos de menor tamaño cuando poseen la misma movilidad (Polis *et al.*, 1989; Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Pell *et al.*, 2008; Ingels & De Clercq, 2011); además especies de mayor tamaño pueden consumir gran número de presas de menor tamaño con un índice bajo de gasto energético (Aljetlawi *et al.*, 2004; Pell *et al.*, 2008). Por otra parte, especies o estados de desarrollo que presentan movilidad reducida serían más susceptibles a ser depredados. Así, huevos y pupas son más frecuentemente depredados por larvas y adultos (Polis *et al.*, 1989; Lucas *et al.*, 1998; Evans, 2004; Lucas, 2005; Frechette *et al.*, 2007; Ingels & De Clercq, 2011). Generalmente no ocurre DIG entre adultos. Además, esta interacción puede estar condicionada por la abundancia de presas

extragremio (i.e., áfidos) causando cambios en la frecuencia de DIG, haciéndola aumentar o disminuir. Cuando hay una mayor oferta de presas extragremio la DIG ocurre con menor intensidad por cuanto los coccinélidos preferirían comer áfidos (Polis *et al.*, 1989; Gardiner & Landis., 2007; Gagnon & Brodeur, 2014; Bayoumy & Michaud, 2015; Trotta *et al.*, 2015). Ello ha sido observado en estudios de laboratorio con larvas y adultos de *H. axyridis* depredando sobre coccinélidos en EEUU, los que disminuyeron la intensidad de DIG cuando la disponibilidad de áfidos aumentaba (Gardiner & Landis, 2007). En Chile, Grez *et al.* (2012) observaron que la DIG de adultos de *Eriopsis chilensis* (Hoffman) e *Hippodamia variegata* (Goeze) sobre huevos de ambas especies aumentaba en ausencia de áfidos. También un mayor número de presas intragremio (e.g., otras especies de coccinélidos) debería generar un aumento de DIG en lugares o épocas con escasez de áfidos, ya que una especie podría ampliar su dieta incluyendo a otros integrantes del mismo gremio y eliminando posibles competidores (Polis *et al.*, 1989; Yasuda *et al.*, 2004; Gagnon & Brodeur, 2014; Bayoumy & Michaud, 2015). Esto también podría ocurrir cuando el valor nutricional de las presas intragremio es mayor que el de presas extragremio, o bien cuando la densidad de presas intragremio es muy alta incrementando la probabilidad de contacto entre depredadores y presas intragremio (Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Nóia *et al.*, 2008; Lucas *et al.*, 2009).

En nuestro país, las especies más abundantes de coccinélidos presentes en los campos de alfalfa en Chile central son la nativa *E. chilensis* y las exóticas *H. variegata* y *H. axyridis* (Grez *et al.*, 2012; Grez *et al.*, 2014a; Grez *et al.*, 2014b). *Eriopsis chilensis* es una especie endémica del sur de Sudamérica con una amplia presencia en Chile (Hoffman, 1970; Montes, 1970; González, 2014); *H. variegata*,

originaria de Europa, se estableció en nuestro país luego de ser introducida en 1975 para el control de áfidos (Zúñiga *et al.*, 1986), mientras que *H. axyridis* comenzó con gran número de avistamientos el año 2008 en alfalfaes de la zona central, aumentando su distribución a lo largo del país con el pasar de los años (Grez *et al.*, 2010; Roy *et al.*, 2012; Grez *et al.*, 2016). Estas tres especies coexisten espacial y temporalmente en alfalfaes, incluso en áreas reducidas, presentando una ventana temporal durante la primavera donde se presentan los máximos de abundancia que coinciden con el incremento de los recursos disponibles, los áfidos (Zaviezo *et al.*, 2006; AA Grez, datos no publicados). En las últimas décadas, la abundancia y riqueza de coccinélidos nativos en Chile central han disminuido en conjunto con un aumento en la abundancia de especies exóticas. Inicialmente *H. variegata* era el coccinélido introducido dominante hasta el ingreso de *H. axyridis*, lo que ha resultado en una disminución de *H. variegata* y de coccinélidos nativos en alfalfaes donde *H. axyridis* es abundante (Rivera, 2015; Altamirano, 2016; Grez *et al.* 2016). Esto sugiere que *H. axyridis* podría tener características competitivas ventajosas respecto a la nativa *E. chilensis* y la exótica *H. variegata* (Grez *et al.*, 2012; Grez *et al.*, 2014a; Grez *et al.*, 2014b). Una posible explicación de este fenómeno sería la DIG.

Estudios de laboratorio permiten corroborar la frecuencia, intensidad y simetría de la DIG, manteniendo variables controladas, como la disponibilidad de alimento o la temperatura (Nóia *et al.*, 2008; Grez *et al.*, 2012). Sin embargo, es ampliamente reconocido que las arenas simplificadas utilizadas para experimentos de laboratorio probablemente inducen interacciones a una tasa mayor a la que ocurre en la naturaleza (Frechette *et al.*, 2007; Lucas *et al.*, 2009; Trotta *et al.*, 2015). De esta

forma los estudios de campo adquieren mayor relevancia ya que entregan una visión más realista de este fenómeno. Uno de los métodos frecuentemente utilizados para el análisis de DIG en coccinélidos en campo incluye la observación directa de depredación de huevos centinelas (Smith & Gardiner, 2013; Roy & Brown, 2015). Sin embargo, la sola observación de cuántos huevos centinelas son consumidos no entrega información de qué factores determinan esta interacción. Además, este método ha sido cuestionado por algunos autores por cuanto la adición de huevos centinelas implica una modificación de las condiciones del sitio de estudio al manipular la oferta de presas intragremio (Aebi *et al*, 2011; Roy & Brown, 2015). Ello ha generado la necesidad de realizar estudios de campo utilizando otras metodologías menos invasivas, documentando cuantitativamente la interacción entre especies dentro de una comunidad, sin alterar las condiciones naturales del hábitat o de las interacciones estudiadas (Roy & Brown, 2015).

Un método reciente para detectar DIG es a través del análisis del contenido estomacal con técnicas moleculares. La amplificación por PCR para el análisis de contenido estomacal consiste en el diseño de partidores específicos para cada especie, que se adhieran a un fragmento específico del ADN de la presa, permitiendo la detección y amplificación de pequeños segmentos dentro de los estómagos de depredadores (Gagnon *et al.*, 2011a, 2011b). Con ello, se asegura la identificación de especies consumidas sin perturbar las interacciones naturales que se están dando en el hábitat. Por lo tanto, las aplicaciones de los análisis moleculares de contenido estomacal para las investigaciones de DIG, junto con una caracterización de factores, como la abundancia de presas intra y extra gremio, pueden proveer un mejor

entendimiento de las interacciones dentro de una comunidad (Aebi *et al*, 2011; Roy & Brown, 2015).

El objetivo de este estudio fue evaluar, por medio de análisis molecular de contenido estomacal, la DIG en *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. chilensis* en campos de alfalfa de Chile Central y estimar la asociación entre la abundancia de presas extra e intragremio con la intensidad de esta interacción. Debido al incremento exponencial de las poblaciones de *H. axyridis* en otras partes del mundo y en Chile, y a la DIG asimétrica observada en otras latitudes, se espera que en condiciones de campo esta especie ejerce una mayor DIG que *H. variegata* y *E. chilensis*, siendo esta interacción bidireccional pero asimétrica en favor de *H. axyridis*. Adicionalmente, se espera que la intensidad de DIG aumentó al disminuir la abundancia de presas extragremio (áfidos) y al aumentar la abundancia de presas intragremio (coccinélidos).

## **Materiales y Métodos**

### **Sitios de muestreo**

El estudio se realizó en 10 campos comerciales de alfalfa (*Medicago sativa* L) de a lo menos una hectárea, ubicados en la zona sur de la Región Metropolitana, durante la primavera de 2015. La selección de los alfalfaes se hizo en función de aquellos que presentaran poblaciones de las tres especies de coccinélidos afidófagos más abundantes en la zona central de Chile: *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. chilensis*, y que presentaran variabilidad en la abundancia de áfidos (Andrade, 2013; Ximénez-Embun *et al.*, 2013). Los alfalfaes debían tener similares sistemas de manejo, sin aplicación de insecticidas al menos dos semanas antes del muestreo; además debían presentar plantas sanas de 30 a 50 cm de altura. Los coccinélidos y áfidos fueron muestreados previo al primer corte de la alfalfa, debido a que este manejo genera un declive de los áfidos. En cada alfalfal se determinaron dos áreas de 100 m de largo por 10 m de ancho, obteniendo un área de muestreo de presas intra y extragremio total de 0,2 ha (Gardiner *et al.*, 2011).

### **Captura y conservación de muestras**

Para el análisis de contenido estomacal de *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. chilensis*, en cada alfalfal se realizaron colectas hasta obtener 20 individuos adultos de cada especie mediante redes entomológicas pasadas entre las 10:00 y las 16:00 h, periodo en que los coccinélidos concentran su actividad de alimentación (Thomas *et al.*, 2013; Andrade, 2013; Ximénez-Embun *et al.*, 2013). Cada diez redadas, los

individuos se colectaron utilizando guantes de látex e inmediatamente fueron depositados individualmente en tubos Eppendorf, evitando la contaminación con otros individuos, y fueron guardados en un contenedor a 4°C para aletargar su actividad. Posteriormente fueron conservados por unos pocos días a -20°C (Gagnon *et al.*, 2011b; Brown *et al.*, 2014; Rondoni *et al.*, 2014), hasta llevarlos a un freezer a -80°C, impidiendo el deterioro del material en el tiempo (Thomas *et al.*, 2013).

### **Extracción de ADN y Diseño de partidores**

Se realizó una extracción de ADN del contenido estomacal de cada uno de los individuos a partir del individuo completo por medio del método de *Salting out* modificado para artrópodos (De Armas *et al.*, 2005; Bustamante *et al.*, 2011). El ADN obtenido fue conservado a -20°C para su posterior análisis (Thomas *et al.*, 2013). Las secuencias genéticas de la región COI y los partidores específicos para *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. chilensis* fueron obtenidos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Talca (Ortíz-Martínez, 2013).

### **Amplificación por PCR *singleplex***

Se realizaron PCRs *singleplex* utilizando partidores (*forward* y *reverse*) para cada una de las tres especies de coccinélidos. Las amplificaciones se realizaron en un volumen total de 10 uL, compuesto por 5 uL de Sapphiramp Fast PCR Master mix, 1 uL de mezcla de partidores, 1,5 uL de muestra de ADN de cada individuo y 2,5 uL de H<sub>2</sub>O (Gagnon *et al.*, 2011a). Las condiciones para el termociclado fueron un primer ciclo de 15 segundos a 95°C, posteriormente 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 90

segundos a 65°C y 90 segundos a 72°C, finalmente un ciclo de 60 segundos a 72°C para luego mantenerse a 4°C.

### **Electroforesis**

Se cargó 1 uL de producto de PCR de cada individuo a analizar junto a 1 uL de Ladder 50bp. Se corrieron en 50-70 mL de gel de agarosa de cama grande al 3% (30 minutos de secado), por 75 minutos, 100v, 100 mAh. Como control negativo se cargaron 1 uL de H<sub>2</sub>O y, como control positivo, una muestra de 1 uL de producto de PCR con ADN de la especie objetivo.

### **Muestreo de presas intra y extra gremio**

Para estimar la abundancia de presas intragremio (i.e., *H. axyridis*; *H. variegata* y *E. chilensis*) y extragremio (i.e., áfidos de las especies *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora*, *Therioaphis trifolii*), se realizó un muestreo sistemático inmediatamente después de la colecta de los individuos para el análisis molecular con red entomológica de 30 cm de diámetro, pasando 100 veces la red en un recorrido en zigzag de 100 m cercano al punto de obtención de las muestras para el análisis de contenido estomacal (Andrade, 2013; Grez *et al.*, 2014a). Se consideraron como presas intragremio a adultos y larvas de las especies *H. axyridis*, *H. variegata* y *E. chilensis*, debido a que son las especies de coccinélidos de mayor abundancia en los alfalfaes en primavera, con más de 90% de los individuos (Grez *et al.*, 2016). Si bien los adultos en general no sufren DIG, su abundancia fue tomada como un indicador de la abundancia de los otros estados de desarrollo que si son depredados por otros coccinélidos. Otros órdenes de insectos afidófagos no fueron considerados ya que

estudios previos han mostrado que ellos son poco consumidos por coccinélidos en comparación a otras especies de coccinélidos (Brown *et al.*, 2014; Howe *et al.*, 2016). Los áfidos y coccinélidos fueron recolectados en frascos plásticos y conservados en frío para su cuantificación e identificación en el laboratorio (Bartlett *et al.*, 2015).

### **Análisis Estadístico**

La intensidad de la DIG se estimó a partir del número de individuos de cada especie que contenía ADN de alguna de las otras dos especies (i.e., *H. axyridis* con ADN de *H. variegata* y *E. chilensis*; *H. variegata* con ADN de *H. axyridis* y *E. chilensis* y *E. chilensis* con ADN de *H. variegata* y *H. axyridis*), considerando el total de individuos muestreados en los 10 alfalfales. Estos datos (DIG por especie) fueron comparados a través de una prueba de Chi-cuadrado, calculando la diferencia entre la intensidad de la depredación observada con la esperada. La simetría se calculó a partir del número de repeticiones donde se registró DIG. Este se comparó con un índice teórico del 50% (correspondiente a una relación simétrica) a través de la prueba de Chi-cuadrado. En caso de haber diferencias significativas entre el índice observado con el teórico ( $P \leq 0,05$ ) la DIG se consideró asimétrica a favor de una de las especies de depredadores (Lucas, 2005).

Para determinar si existía una relación entre el número de presas intra y extragremio en cada alfalfal (variables predictoras: abundancia de adultos y larvas de *H. axyridis*, *H. variegata*, *E. chilensis* y de áfidos) y la intensidad de la DIG observada en cada especie (variables respuestas: combinatorias depredador-presa), se realizó una regresión parcial de mínimos cuadrados (*Partial Least Square* o PLS). Este método

calcula un modelo predictivo utilizando una serie de componentes, los cuales son elegidos con el criterio de mínimo PRESS (*Predicted Residual Sum of Squares*). La regresión PLS entrega tres medidas de validez de importancia que son:  $R^2X$  que es la proporción de la varianza que las variables predictoras utilizan en el modelo;  $R^2Y$  que es la proporción en las variables respuestas que es explicada por el modelo y  $Q^2$  un índice que explica si el modelo tiene relevancia predictiva si es positivo (Chin, 2010). Dentro del análisis se obtiene el índice VIP (*Variable Importance in the Projection*) el cual indica la influencia relativa de cada variable predictor en la proyección del modelo y el peso ( $w$ ) que corresponde al porcentaje de variación de cada variable en explicar el modelo. Aquellas variables predictoras que presentan un valor VIP superior a 0,8 y un peso ( $w$ ) mayor a 0,6 son consideradas como relevantes en explicar una variable respuesta (Tenenhaus, 1998; Grez *et al.* 2014b). Los resultados del análisis PLS se graficaron en un mapa de correlación en cuyos ejes están los dos primeros componentes del PLS (Tenenhaus *et al.*, 2005). Todos estos análisis se realizaron con el programa estadístico R studio versión 1.0.136.

## Resultados

### Intensidad, dirección y simetría

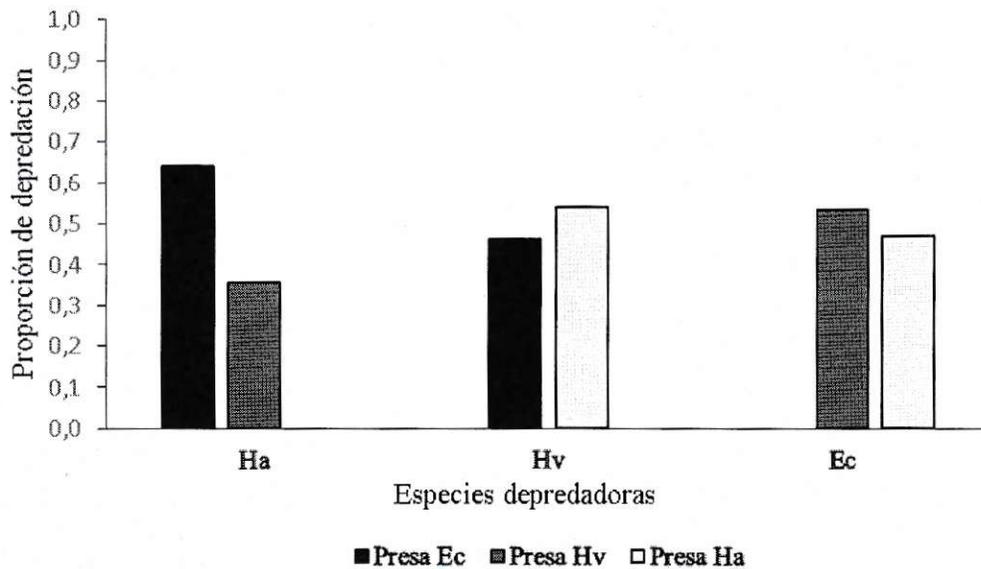
En relación a la intensidad, de un total de 600 muestras de coccinélidos colectadas en los 10 alfalfaes y analizadas mediante PCR (200 individuos por especie), en 56 se detectó DIG, independiente de la identidad de la presa (9,3% de los 600). De 200 individuos analizados por especie depredadora se encontraron 28 DIG realizadas por *H. axyridis* (14%), 13 realizadas por *H. variegata* (6,5%) y 15 realizadas por *E. chilensis* (7,5%). De los 56 casos positivos de DIG, el 50% ocurrió en *H. axyridis*, el 23,2% en *H. variegata* y 26,7% en *E. chilensis*, donde *H. axyridis* es la única que muestra una intensidad significativamente superior a la intensidad esperada calculada y mayor a las otras dos especies ( $P < 0,05$ , Tabla 1).

**Tabla 1:** Intensidad de DIG según especie, independiente de la especie presa. Se indica el número de individuos de cada especie con y sin DIG observados y esperados, el valor de  $x^2$  y P entre el esperado y el observado para cada especie y entre las tres especies.

	<i>E. chilensis</i>	<i>H. variegata</i>	<i>H. axyridis</i>
Con depredación (observado)	15	13	28
Sin depredación (observado)	185	187	172
Total	200	200	200
Con depredación (esperado)	18	18	18
Sin depredación (esperado)	181	181	181
$x^2$	0,877	1,723	4,787
Valor de P	0,349	0,189	0,029*
Valor de P entre todos	0,024*		

De los 28 eventos de DIG realizados por *H. axyridis*, 10 (35%) fueron hacia *H. variegata* y 18 (65%) hacia *E. chilensis*. En el caso de *H. variegata*, de las 13 DIG 7

(54%) fueron hacia *H. axyridis* y 6 (46%) hacia *E. chilensis*, en tanto para *E. chilensis*, de las 15 DIG 7 (47%) ocurrieron hacia *H. axyridis* y 8 (53%) hacia *H. variegata* (Figura 1). La mayor DIG fue desde *H. axyridis* a *E. chilensis*, sin embargo, en ninguna combinatoria existen diferencias significativas ( $\chi^2_{Ha}=2,28$ ,  $P=0,13$ ;  $\chi^2_{Hv}=0,07$ ,  $P=0,78$ ;  $\chi^2_{Ec}=0,06$ ,  $P=0,79$ ).



**Figura 1:** Intensidad de DIG análisis según pares de depredador-presa, Ha: depredador *H. axyridis*; Hv: depredador *H. variegata*; Ec: depredador *E. chilensis*; el color de las barras indica la presa consumida. Análisis según comparación por  $\chi^2$ .

Del total de casos de DIG, independiente de la identidad del depredador, *E. chilensis* fue depredada 24 veces (43%); *H. variegata* 18 veces (32%) y *H. axyridis* 14 veces (25%), sin embargo, no existen diferencias significativas ( $\chi^2=2,71$ ,  $P=0,25$ ).

En todas las combinatorias la DIG fue bidireccional, por cuanto las tres especies actuaron tanto como depredador intragremio y como presa intragremio. En relación a la simetría, solo en la combinatoria *E. chilensis* y *H. axyridis* se observaron diferencias significativas entre el número de casos de DIG observado y el teórico del 50%, en favor de *H. axyridis* ( $\chi^2$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,028$ , Tabla 2). La DIG en las otras dos combinatorias (*H. axyridis* con *H. variegata* y *E. chilensis* con *H. variegata*) fueron simétricas (Tabla 2).

**Tabla 2:** Simetría de la DIG en las distintas combinatorias de coccinélidos. Se muestra el número de individuos de cada especie en cada combinatoria actuando como depredador intragremio según análisis de contenido estomacal. La simetría se calculó en función de un índice teórico del 50% de depredación que asume simetría en la DIG. *E. c:* *Eriopsis chilensis*; *H. a:* *Harmonia axyridis*; *H. v:* *Hippodamia variegata*. Comparación por  $\chi^2$ .

Especies	Combinatoria 1		Combinatoria 2		Combinatoria 3	
	<i>E. c</i>	<i>H. a</i>	<i>H. a</i>	<i>H. v</i>	<i>E. c</i>	<i>H. v</i>
Depredación	7	18	10	7	8	6
50% teórico	12,5	12,5	8,5	8,5	7	7
Total depredación	25		17		14	
$\chi^2$	4,84		0,286		0,529	
Valor de P	0,028*		0,593		0,467	
	asimétrica		simétrica		simétrica	

### **Influencia de presas intragremio y extragremio sobre la intensidad de depredación.**

El modelo PLS incluyó tres componentes que explicaron un 64% de la varianza de las variables respuestas ( $R^2Y$ ) y un 94% de las variables predictoras ( $R^2X$ ) (Tabla 3).

**Tabla 3:** Modelo de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS). Se entregan los parámetros de calidad para los tres primeros componentes (t):  $Q^2$ ,  $R^2Y$  y  $R^2X$ . El asterisco señala aquellos valores de  $Q^2$  que indican un componente con relevancia predictiva.

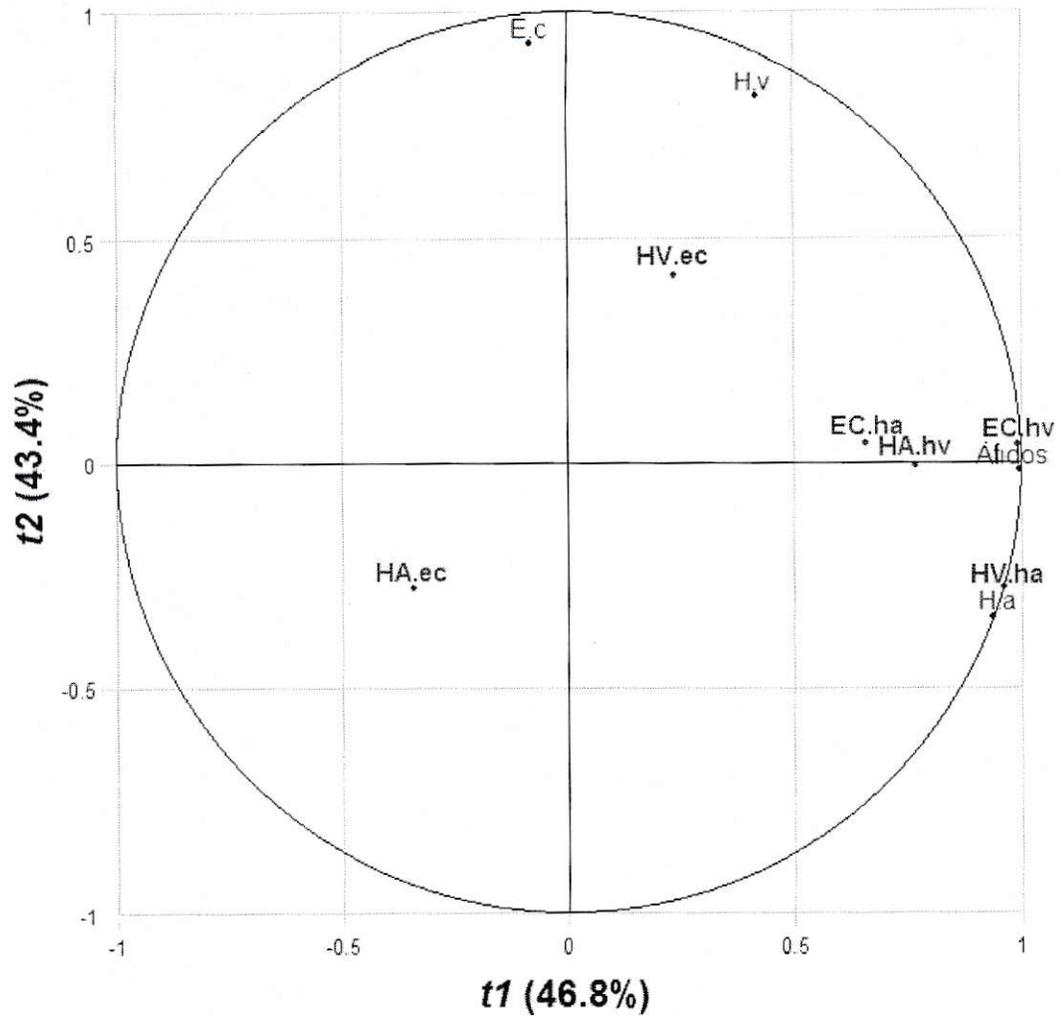
	Componentes		
	t1	t2	t3
$Q^2$	0,244*	-0,339	0,116*
$R^2Y$ acumulado	0,424	0,480	0,648
$R^2X$ acumulado	0,468	0,902	0,942

El componente 1 y el componente 3 presentaron un  $Q^2$  positivo (Tabla 3) en dichos componentes las únicas variables que presentaron un VIP mayor a 0,8 y un peso superior a 0,6 son la abundancia de áfidos y la abundancia de *H. axyridis* (Tabla 4).

**Tabla 4:** Pesos (w) y VIP para las variables predictoras en los componentes con relevancia predictiva. El asterisco indica aquellos con un peso superior a 0,6 y un VIP superior a 0,8 en valor absoluto.

Variables	Peso		VIP	
	W 1	W 3	VIP 1	VIP 3
Abundancia de <i>E. chilensis</i>	-0,008	0,461	0,016	0,549
Abundancia de <i>H. variegata</i>	0,245	-0,259	0,489	0,656
Abundancia de <i>H. axyridis</i>	0,672*	0,705*	1,343*	1,301*
Abundancia de áfidos	0,699*	-0,546	1,399*	1,255*

Las relaciones entre las variables predictoras y respuestas se pueden observar gráficamente en el círculo de correlación (Figura 2). La intensidad de la depredación de *E. chilensis* sobre *H. axyridis* y *H. variegata*, de *H. variegata* sobre *H. axyridis* y de *H. axyridis* sobre *H. variegata* aumenta cuando la abundancia de *H. axyridis* y de áfidos es mayor (Figura 2).



**Figura 2:** Mapa de correlaciones de la regresión de mínimos cuadrados parciales PLS de combinatorias de depredación intragremio (en rojo) y la abundancia de presas intra y extragremio (en negro). Variables predictoras: Áfidos; H.a (abundancia de adultos y larvas de *Harmonia axyridis*); H.v (abundancia de adultos y larvas de *Hippodamia variegata*); E.c (abundancia de adultos y larvas de *Eriopsis chilensis*); Variables respuestas HA.ec, depredación de *H. axyridis* sobre *E. chilensis*; HA.hv, depredación de *H. axyridis* sobre *H. variegata*; HV.ha, depredación de *H. variegata* sobre *H. axyridis*; HV.ec, depredación de *H. variegata* sobre *E. chilensis*; EC.ha, depredación de *E. chilensis* sobre *H. axyridis*; EC.hv, depredación de *E. chilensis* sobre *H. variegata*. Se grafican los primeros dos componentes del modelo  $R^2Y = 0,434$ ;  $R^2X = 0,468$ ;  $Q^2 = -0,094$ .

## Discusión

Experimentos de laboratorio y de campo han demostrado que la DIG por coccinélidos afidófagos hacia otros miembros del gremio es frecuente, donde en algunos casos se ha llegado a detectar sobre un 50% de DIG (Ingels & De Clercq 2011; Gagnon *et al.*, 2011a; Rondoni *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2017). Sin embargo, la DIG es usualmente menos frecuentemente observada en condiciones de campo que en el laboratorio (Frechette *et al.*, 2007; Trotta *et al.*, 2015). Se sabe que las situaciones experimentales de laboratorio son una simplificación de lo que sucede en la naturaleza, donde en general las condiciones de confinamientos en arenas experimentales pequeñas y con condiciones homogéneas favorecen el encuentro de los depredadores intragremio, lo que aumenta la probabilidad de que la DIG suceda (Frechette *et al.*, 2007; Aebi *et al.*, 2011; Trotta *et al.*, 2015). En nuestro estudio, de los 600 individuos colectados en 10 alfalfales, encontramos un 9,6% de eventos de DIG. Este porcentaje es menor al detectado en estudios de laboratorio, pero similar al documentado por Thomas *et al.* (2013) en el campo (12% de 156 individuos analizados), estudiando la DIG entre *H. axyridis* y otras especies de coccinélidos en plantaciones de lima. Entre otras variables que permiten explicar los bajos porcentajes de detección en el campo están la disponibilidad de presas intra y extragremio (véase más adelante), la segregación espacial o temporal de los interactuantes, y principalmente la complejidad estructural asociada a la vegetación, la que entrega una mayor disponibilidad de refugios, lo que reduce la probabilidad de

contacto entre las especies, disminuyendo así la posibilidad de DIG (Frechette *et al.*, 2007; Trotta *et al.*, 2015).

La depredación por parte de *H. axyridis* sobre otras especies de coccinélidos ha sido considerada como un fenómeno común en los sistemas en los que está presente, afectando especialmente a las especies nativas benéficas para el control biológico (Pell *et al.*, 2008; Aebi *et al.*, 2011). Así, por ejemplo, en numerosos estudios en Europa, *H. axyridis* ha sido considerada como un frecuente depredador intragremio, que además ejerce una DIG asimétrica a su favor, presentando especialmente intensidades de depredación hacia coccinélidos nativos mayores a la intensidad con la que ella es depredada (Ware & Majerus, 2008; Hemptinne *et al.*, 2012; Katsanis *et al.*, 2013). En nuestro estudio, a pesar de que en todas las combinatorias la DIG fue bidireccional entre las tres especies de coccinélidos estudiados, de las tres especies analizadas, *H. axyridis* por una parte fue la que presentó un mayor número de eventos de DIG (50 % del total de eventos de DIG) y por otra, la única que presentó una DIG asimétrica en la combinatoria con la especie nativa *E. chilensis*, similar a lo observado en Europa (Ware & Majerus, 2008; Katsanis *et al.*, 2013) Esta asimetría en favor de *H. axyridis* es también similar a lo documentado por Gagnon *et al.* (2011a), utilizando el mismo protocolo de análisis molecular, donde el porcentaje de éxito de la depredación intragremio entre *H. axyridis* y *Coccinella septempunctata* fue mayor en favor de *H. axyridis*. Por otra parte, las especies *H. variegata* y *E. chilensis* actuaron como depredadores intragremio en un porcentaje similar entre ellas, de 23,3% y 26,7%, respectivamente. Esta similitud de la DIG entre estas dos especies coincide con lo evidenciado por Grez *et al.* (2012) en experimentos en laboratorio

para estas mismas especies, donde se observó un porcentaje de DIG similar en presencia de áfidos.

Entre los factores que pueden determinar la mayor intensidad y la asimetría en la DIG por parte de *H. axyridis* está el tamaño relativo de las especies interactuantes, siendo la especie de mayor tamaño quien ejerce más frecuentemente el rol de depredador por sobre la que posee menor tamaño (Polis *et al.*, 1989; Woodward & Hildrew, 2002; Felix & Soares, 2004; Howe *et al.*, 2016; Wells *et al.*, 2016). Para el caso de las especies de este estudio, *H. axyridis* es significativamente más grande que las otras dos especies, presentando en estado adulto entre 6,5 a 8 mm de longitud, mientras que *E. chilensis* y *H. variegata* miden de 4 a 5 mm, aproximadamente (González, 2006). Pero el tamaño corporal no sería el único factor dado que la asimetría se observó solo hacia *E. chilensis* y no hacia *H. variegata*. Conductas de escape podrían modular esta interacción, como la alta movilidad de larvas o el dejarse caer de las plantas cuando se acerca el depredador (Lucas *et al.*, 1998; Sato *et al.*, 2005), algo que no fue evaluado y merece ser estudiado. Por otra parte, *H. axyridis* consume el doble de presas que *H. variegata* y *E. chilensis* (Zaviezo *et al.*, en prep.), por lo que su demanda de alimento haría que ella depredara sobre las otras con mayor probabilidad.

Aunque estadísticamente no se encontraron diferencias significativas, de las tres especies de coccinélidos, la más depredada, independientemente de la especie de coccinélido depredador, fue *E. chilensis* (43%), seguida por *H. variegata* (32%), y la menos depredada fue *H. axyridis* (25%). Se ha descrito que *H. axyridis* en general es poco depredada debido a que posee defensas químicas y morfológicas que la

protegen contra los depredadores. Por ejemplo, a nivel de huevos y de larvas se ha descrito la presencia de alcaloides, compuestos que presentan cierto nivel de toxicidad lo que genera que ellos sean poco consumidos (Ware *et al.*, 2008; Katsanis *et al.*, 2017).

La DIG puede variar en distintos lugares en función de la abundancia de las presas extra e intragremio. En general, para coccinélidos afidófagos se ha descrito que la mayor abundancia de presas extragremio (i.e., áfidos) resultaría en una disminución en la intensidad de DIG debido a que los áfidos constituirían un alimento de mayor calidad que miembros del mismo gremio (Lucas *et al.*, 1998; Burgio *et al.*, 2005; Nóia *et al.*, 2008; Grez *et al.*, 2012; Hodek & Evans, 2012; Trotta *et al.*, 2015; Rocca *et al.*, 2017). Por ejemplo, en experimentos de laboratorio la DIG de *H. axyridis* sobre *E. balteatus* disminuye en un 47% en presencia de áfidos (Ingels & De Clerq., 2011). No obstante, en nuestro estudio, *E. chilensis* mostró una mayor depredación hacia *H. variegata* y *H. axyridis* al incrementar el número de presas extragremio, como también *H. axyridis* hacia *H. variegata* y *H. variegata* hacia *H. axyridis*. En la literatura, también se ha propuesto que la DIG puede incrementar con la abundancia de presas extragremio en situaciones de campo, ya que al consumir un gran número de presas extragremio, como áfidos, los depredadores intragremio obtendrían más energía, lo que les permitiría movilizarse y distribuirse de mejor manera a lo largo de los campos, incrementando de esta manera la probabilidad de contacto con potenciales presas intragremio (Lucas *et al.*, 1998). Por otra parte, la abundancia de presas intragremio (e.g., otras especies de coccinélidos) podría favorecer la DIG al incrementar la probabilidad de contacto con una presa por simple efecto de masa (Lucas *et al.*, 1998; Lucas, 2005; Nóia *et al.*, 2008; Lucas *et al.*, 2009) o bien por

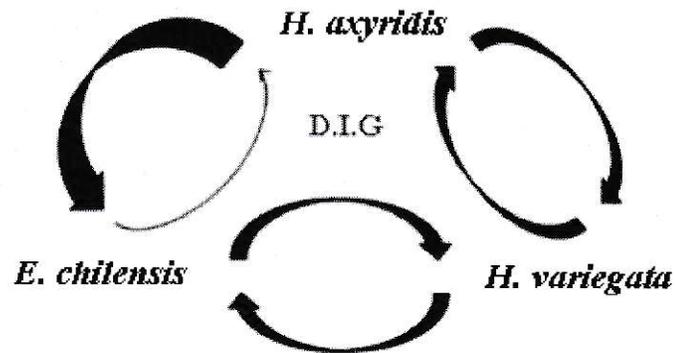
cambios conductuales, al favorecer que el depredador intragremio fije la imagen de su presa intragremio, facilitando su detección y consumo (Polis *et al.*, 1989; Yasuda *et al.*, 2004; Gagnon & Brodeur, 2014; Bayoumy & Michaud, 2015). Similar a lo observado con las presas extragremio, la intensidad de la DIG entre *E. chilensis* hacia *H. variegata* y *H. axyridis*, de *H. axyridis* hacia *H. variegata* y de *H. variegata* hacia *H. axyridis* incrementó con la abundancia de *H. axyridis*. Esto es esperable para las combinatoria en que *H. axyridis* está participando como presa dado que sería más accesible para sus depredadores intragremio, sin embargo, para las otras combinatorias no tenemos explicación. Interesantemente, la intensidad de la depredación de *H. axyridis* sobre *E. chilensis* no se relacionó ni con la abundancia de áfidos ni con la de *H. axyridis*, lo que sugiere que esta interacción de depredación desde la especie invasora a la nativa se daría independientemente de la oferta de recursos.

La persistencia de *H. axyridis* en alfalfales depende de la cantidad de áfidos presente, dado a su alto consumo de recursos, siendo poco abundante en lugares en que los áfidos son escasos (Altamirano, 2016), y en alfalfales donde ella es abundante en primavera temprana, los abandona avanzada la temporada cuando los áfidos disminuyen, sin embargo, para *E. chilensis* y *H. variegata* sus poblaciones persisten, debido a que ellas comen menos áfidos y consumen sobre otros recursos como polen. De esta manera, en épocas avanzadas de la temporada o en alfalfales con menos áfidos existiría un refugio en que *E. chilensis* escaparía a la DIG por parte de *H. axyridis*.

## Conclusión

Este estudio, realizado con técnicas moleculares, aporta al conocimiento de la ecología trófica de las especies de coccinélidos más abundantes en Chile central. En él determinamos la frecuencia en que cada especie actúa como depredadora y presa intragremio, además de las asociaciones entre la intensidad de estas interacciones con la abundancia de presas intra y extra gremio. Con ello, no solo contribuimos a la caracterización de estas interacciones hasta ahora no descritas en los campos de alfalfa de Chile central, sino además a contextualizarlas en función de la oferta de recursos.

La mayor intensidad de DIG que ejerce *H. axyridis* en comparación con las otras dos especies, además de la tendencia a una relación asimétrica con la especie nativa (Figura 3), sugiere que esta especie invasora, de reciente llegada al país y muy abundante en alfalfa, puede modular la estructura comunitaria de los ensambles de coccinélidos en este cultivo, resultando en una disminución de la diversidad de los ensambles y de especies nativas, entre ellas *E. chilensis*, como de hecho ha ocurrido en los últimos años.



**Figura 3:** Esquema de dirección y simetría de DIG de las especies *H. axyridis*; *H. variegata*; *E. chilensis*; las flechas indican la identidad de los depredadores y presas, el grosor de la flecha indica la intensidad de la interacción

Por otra parte, el incremento de presas extra e intragremio generan un incremento en la DIG en algunas combinatorias de depredador presa, lo que sugiere que al aumentar la oferta de recursos disponibles a la vez incrementan las capacidades como depredadores de las especies estudiadas y por lo tanto generan más DIG. Sin embargo, ello no ocurre en la depredación desde *H. axyridis* sobre *E. chilensis*, sugiriendo que esta amenaza de la invasora sobre la nativa ocurriría independientemente de las condiciones en las cuales ellas interactúan.

## Bibliografía

Aebi, A., Brown, P. M., De Clercq, P., Hautier, L., Howe, A., Ingels, B., Ravn H.P., Sloggett, J.J., Zindel, R. & Thomas, A. 2011. Detecting arthropod intraguild predation in the field. *Biological Control*. 56(4): 429-440.

Aljetlawi, A.A., Sparrevik, E. & Leonardsson, K. 2004. Prey-predator size dependent functional response: derivation and rescaling to the real world. *Journal of Animal Ecology*. 73: 239-252.

Altamirano, D. 2016. Relación entre la abundancia de *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) y la abundancia y diversidad de otros coccinélidos nativos y exóticos asociados a alfalfaes en Chile central en otoño. Tesis para optar al título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile, Santiago, Chile

Andrade, P. 2013. Depredación intragremio y canibalismo sobre huevos de un coccinélido nativo y uno exótico en alfalfaes en Chile central. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Bahlai, C.A., Colunga-Garcia, M., Gage, S.H. & Landis, A. 2015. The role of exotic ladybeetles in the decline of native ladybeetle populations: evidence from long-term monitoring. *Biological Invasions*. 17: 1005-1024.

Bartlett, P.B., Hesler, L.S., French, B.W., Catangui, M.A. & Gritzner, J.H. 2015. Lady beetle assemblages (Coleoptera: Coccinellidae) in Western South Dakota and Western Nebraska and detection of reproducing populations of *Coccinella novemnotata*. *Annals of the Entomological Society of America*. 108(4): 474-486

Bayoumy, M.H. & Michaud, J.P. 2015. Cannibalism in two subtropical lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) as a function of density, life stage, and food supply. *Journal of Insect Behavior*. 28(4): 387-402.

Brown, M.W. 2004. Role of aphid predator guild in controlling *spirea* aphid populations on apple in West Virginia, USA. *Biological Control*. 29: 189-198.

Brown, P.M.J., Adriens, T., Bathon, H., Cuppen, J., Goldarazena, A., Hägg, T., Kenis, M., Klausnitzer, B.E.M., Kovár, I., Loomans, A.J.M., Majerus, M.E.N., Nedved, O., Pedersen, J., Rabitsch, W., Roy, H.E., Ternois, V., Zarkharov, I.A. & Roy, D.B. 2008. *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *Biological Control*. 53: 5-21.

- Brown, P.M.J., Thomas, C.E., Lombaert, E., Jeffries, D.L., Estoup, A. & Lawson-Handley, L.J. 2011a. The global spread of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion. *Biological Control*. 56: 623-641.
- Brown, P.M.J., Frost, R., Doberski, J., Sparks, T., Harrington, R. & Roy, H. 2011b. Decline in native ladybirds in response to the arrival of *Harmonia axyridis*: early evidence from England. *Ecological Entomology*. 36: 231-240.
- Brown, P.M.J., Ingels, B., Wheatley, A., Rhule, E., De Clercq, P., Van Leeuwen, T. & Thomas, A. 2014. Intraguild predation by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on native insects in Europe: molecular detection from field samples. *Entomological Science*. 18(1): 130-133.
- Burgio, G., Santi, F., Maini, S. 2005. Intra-guild predation and cannibalism between *Harmonia axyridis* and *Adalia bipunctata* adults and larvae: laboratory experiments. *Bull. Insectology*. 58(2): 135-140.
- Bustamante, J., Astudillo, M., Pazos, A. & Bravo, L. 2011. Evaluación de dos métodos de extracción de AND a partir de biopsias fijadas en formalina y embebidas en parafina en condiciones no óptimas. *Acta Biológica Colombiana*. 16(2): 83-98.
- Chin, W.W. 2010. How to write up and report PLS analyses. En: Vinzi, V.E., Chin, W.W., Henseler, J., Wang, H (Eds). *Handbook of Partial Least Squares*, Springer Handbooks of Computational Statistics. 665-690.
- De Armas, Y., Rodríguez, M. & Bisset, J. 2005. Modificación de un método de extracción de AND genómico de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 31 (2): 203-206.
- Elliot, N., Kieckhefer, R. & Kauffman, W. 1996. Effects on an invading coccinellid on native coccinellids in an agricultural landscape. *Oecologia*. 105: 537-544.
- Evans, E.W. 2004. Habitat displacement of North American ladybirds by an introduced species. *Ecology*. 85: 637-647.
- Evans, E.W., Soares, A.O. & Yasuda, H. 2011. Invasions by ladybugs, ladybirds, and other predatory beetles. *Biological Control*. 56: 597-611.
- Felix, S. & Soares, A.O. 2004. Intraguild predation between the aphidophagous ladybird beetles *Harmonia axyridis* and *Coccinella undecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) the role of body weight. *European Journal of Entomology*. 101: 237-242.
- Fréchette, B., Rojo, S., Alomar, O., & Lucas, É. 2007. Intraguild predation between syrphids and mirids: who is the prey? Who is the predator?. *Biocontrol*. 52(2):175-191.

- Gagnon, A.E., Doyon, J., Heimpel, G.E. & Brodeur, J. 2011a. Prey DNA detection success following digestion by intraguild predators: Influence of prey and predator species. *Molecular Ecology Resource*. 11: 1022-1032.
- Gagnon, A.E., Heimpel, G.E. & Brodeur, J. 2011b. The ubiquity of intraguild predation among predatory arthropods. *PLoS ONE* 6, e28061. doi: 10.1371/journal.pone.0028061
- Gagnon, A.E. & Brodeur, J. 2014. Impact of plant architecture and extraguild prey density on intraguild predation in an agroecosystem. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 152: 165-173.
- Gardiner, M.M. & Landis, D.A. 2007. Impact of intraguild predation by adult *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) biological control in cage studies. *Biological Control*. 40: 386-395.
- Gardiner, M.M., O'Neal, M.E. & Landis, D.A. 2011. Intraguild predation and native lady beetle decline. *PLoS ONE* 6: e23576. doi:10.1371/journal.pone.0023576.
- Gonzalez, G. 2006. Los Coccinellidae de Chile [online]. Disponible en World Wide Web: <http://www.coccinellidae.cl>.
- González, G. 2014. Especies nuevas del género *Eriopis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) del norte de Chile. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*. 54: 61-72.
- Grez, A., Zaviezo, T., González, G. & Rothmann, S. 2010. *Harmonia axyridis* in Chile: a new threat. *Ciencia e Investigacion Agraria* 37: 145-149.
- Grez, A., Viera, B. & Soares, A.O. 2012. Biotic interactions between *Eriopis connexa* and *Hippodamia variegata*, a native and an exotic coccinellid species associated with alfalfa fields in Chile. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 142: 36-44.
- Grez, A., Zaviezo, T. & Gardiner, M. 2014a. Local predator composition and landscape affects biological control of aphids in alfalfa fields. *Biological Control*. 76: 1-9.
- Grez, A., Zaviezo, T., Hernández J., Rodríguez-San Pedro, A. & Acuña, P. 2014b. The heterogeneity and composition of agricultural landscapes influence native and exotic coccinellids in alfalfa fields. *Agricultural and Forest Entomology*. 16(4): 382-390.
- Grez, A., Zaviezo, T., Roy, H., Brown, P., Bizama, G. 2016. Rapid spread of *Harmonia axyridis* in Chile and its effects on local coccinellid biodiversity. *Diversity and Distributions*. 22(9): 982-994
- Hemptinne, J. L., Magro, A., Saladin, C., & Dixon, A. F. G. 2012. Role of intraguild predation in aphidophagous guilds. *Journal of applied entomology*. 136(3): 161-170.

- Hodek, I., Honěk, A. & H. F. van Emden, H. F. (eds.). 2012. Ecology and behavior of the ladybird beetles (Coccinellidae). John Wiley and Sons Ltd. And Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom.
- Hoffman, W. 1970. Die Gattung *Eriopis Mulsant* (Col. Coccinellidae). Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft. 60: 102-116.
- Hoki, E., Losey, J., & Ugine, T.A. 2014. Comparing the consumptive and non-consumptive effects of a native and introduced lady beetle on pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). Biological Control. 70: 78-84.
- Howe, A. G., Ravn, H. P., Pipper, C. B. & Aebi, A. 2016. Potential for exploitative competition, not intraguild predation, between invasive harlequin ladybirds and flowerbugs in urban parks. Biological Invasions. 18: 517-532.
- Ingels, B., & De Clercq, P. 2011. Effect of size, extraguild prey and habitat complexity on intraguild interactions: a case study with the invasive ladybird *Harmonia axyridis* and the hoverfly *Episyrphus balteatus*. BioControl. 56(6): 871-882.
- Katsanis, A., Babendreier, D., Nentwig, W. & Keni, M. 2013. Intraguild predation between the invasive ladybird *Harmonia axyridis* and non-target European coccinellid species. Biological Control. 58: 73-83.
- Katsanis, A., Magro, A., Ramon-Portugal, F., Kenis, M., & Babendreier, D. 2017. Chemical defences of native European coccinellid eggs against intraguild predation by the invasive Asian coccinellid, *Harmonia axyridis* (Pallas). BioControl. 1-12.
- Koch, R., Venette, R., & Hutchison, W. 2006. Invasions by *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in the Western Hemisphere: Implications for South America. Neotropical. Entomology. 35:421-434.
- Lombaert, E., Estoup, A., Facon, B., Joubard, B., Grégoire, J.-C., Jannin, A., Blin, A. & Guillemaud, T. 2014. Rapid increase in dispersal during range expansion in the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. Journal of Evolutionary Biology. 27: 508-517.
- Losey, J. E. & Vaughan, M. 2006. The economic value of ecological services provided by insects. Bioscience. 56: 311-323.
- Lucas, E., Coderre, D & Brodeur, J. 1998. Intraguild predation among aphid predators: characterization and influence of extraguild prey density. Ecology. 79: 1084-1092.
- Lucas, E. 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. European Journal of Entomology. 102: 351-364.

- Lucas, É., Fréchette, B., & Alomar, O. 2009. Resource quality, resource availability, and intraguild predation among omnivorous mirids. *Biocontrol Science and Technology*. 19(6): 555-572.
- Majerus, M., Strawson, V., & Roy, H. 2006. The potential impacts of the arrival of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), in Britain. *Ecological Entomology*. 31(3): 207-215.
- Michaud, J. 2002. Invasion of the Florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and asymmetric competition with a native species, *Cycloneda sanguinea*. *Environmental Entomology*. 31(5): 827-835.
- Montes, F. 1970. Biología y morfología de *Eriopis connexa* Germar, 1824 y de *Adalia bipunctata* Linnaeus, 1758 (Coleoptera). Publicaciones del Centro de Estudios Entomológicos Universidad de Chile. 10: 43-56.
- Nóia, M., Borges, I., & Soares, A. O. 2008. Intraguild predation between the aphidophagous ladybird beetles *Harmonia axyridis* and *Coccinella undecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): the role of intra and extraguild prey densities. *Biological Control*. 46(2): 140-146.
- Obrycki, J. J., Elliott, N. C. y K. L. Giles. 2000. Coccinellid introductions: Potential for and evaluation of non target effects. In: *Nontarget Effects of Biological Control*, ed. P.A. Follett, J.J. Duan, pp. 127-45. Boston, MA: Kluwer Acad
- Ortiz-Martínez, S.A. 2013. Efecto de la diversidad del ensamble de enemigos naturales y la estructura de las redes tróficas involucradas en el control del áfido *Sitobion avenae* en contextos contrastantes de complejidad del paisaje e intensificación agrícola. Proyecto de tesis doctoral, Doctorado en Ciencias Agrarias, Universidad de Talca.
- Pell, J. K., Baverstock, J., Roy, H. E., Ware, R. L., & Majerus, M. E. 2008. Intraguild predation involving *Harmonia axyridis*: a review of current knowledge and future perspectives. *BioControl*. 53(1): 147-168.
- Polis, G.A. 1981. The evolution and dynamics of intraspecific predation. *Annual Review of Systematics and Evolution*. 12: 225-251.
- Polis, G.A., Myers, C.A. & Holt, R.D. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 20: 297-330.
- Rivera, N. 2015. Abundancia y diversidad de coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) presentes en primavera en coberturas del paisaje agrícola de la zona sur-poniente de la Región Metropolitana: relación con la abundancia de la especie de coccinélido invasor, *Harmonia axyridis*. Tesis para optar al título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

- Rocca, M., Rizzo, E., Greco, N., & Sánchez, N. 2017. Intra- and interspecific interactions between aphidophagous ladybirds: the role of prey in predator coexistence. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 162(3): 284-292.
- Rondoni, G., Athey, K.J., Harwood, J.D., Conti, E., Ricci, C. & Obrycki, J. 2014. Development and application of molecular gut-content analysis to detect aphid and coccinellid predation by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in Italy. *Insect Science*. 22(6): 719-730.
- Roy, H., Adrians, T., Isaac, N.J.B., Kenis, M., Onkelinx, T., San Martín, G., Brown, P.M.J., Hautier, L., Poland, R., Roy, D.B., Comont, R., Eschen, R., Frost, R., Zindel, R., Van Vlaenderen, J., Nedved, O., Ravn, H.P., Grégoire, J.C. & de Biseau, J.C. 2012. Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distributions*. 18(7): 717-725.
- Roy, H. & Brown, P.M.J. 2015. Ten years of invasion: *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in Britain. *Ecological Entomology*. 40: 336-348.
- Sato, S., & Dixon, A. F. 2004. Effect of intraguild predation on the survival and development of three species of aphidophagous ladybirds: consequences for invasive species. *Agricultural and Forest Entomology*. 6(1): 21-24.
- Sato, S., Yasuda, H. & Evans, E.W. 2005. Dropping behaviour of larvae of aphidophagous ladybirds and its effects on incidence of intraguild predation: interactions between the intraguild prey, *Adalia bipunctata* (L.) and *Coccinella septempunctata* (L.), and the intraguild predator, *Harmonia axyridis* Pallas. *Ecological Entomology*. 30(2): 220-224
- Sato, S., Shinya, K., Yasuda, H., Kindlmann, P & Dixon, A.F.G .2009. Effects of intra and interspecific interactions on the survival of two predatory ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) in relation to prey abundance. *Applied Entomology and Zoology*. 44: 215-221
- Smith, C.A. & Gardiner, M.M. 2013. Biodiversity loss following the introduction of exotic competitors: does intraguild predation explain the decline of native lady beetles? *PLoS ONE* 8: e84448. doi:10.1371/journal.pone.0084448.
- Tenenhaus, M. 1998. La regression PLS: théorie et pratique. Technip, Paris
- Tenenhaus, M., Pages, J., Ambroisine, L & Guinot, C. 2005. PLS methodology to study relationship between hedonic judgments and products characteristics. *Food Quality and Preference*. 16: 315-325
- Thomas, A., Trotman, J., Wheatley, A., Aebi, A., Zindel, R. & Brown, P. 2013. Predation of native coccinellids by the invasive alien *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): detection in Britain by PCR-based gut analysis. *Insect Conservation and Diversity*. 6: 20-27.

- Trotta, V., Prieto, J. D., Fanti, P., & Battaglia, D. 2015. Prey abundance and intraguild predation between *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). *European Journal of Entomology*. 112(4): 862.
- Van Lenteren, J. C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H., Kuske, S., Loomans, A.J.M., Menzler-Hokkanen, I., van Rijn, P.C.J., Thomas, M.B., Tommasini, M.G., & Zeng, Q.-Q. 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl*. 48: 3-38.
- Ware, R., & Majerus, M. 2008. Intraguild predation of immature stages of British and Japanese coccinellids by the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *BioControl*. 53(1): 169-188.
- Ware, R., Yguel, B., & Majerus, M. 2008. Effects of competition, cannibalism and intra-guild predation on larval development of the European coccinellid *Adalia bipunctata* and the invasive species *Harmonia axyridis*. *Ecological Entomology*. 34:12-19.
- Wells, P. M., Baverstock, J., Clark, S. J., Jiggins, F. M., Roy, H. E., & Pell, J. K. 2017. Determining the effects of life stage, shared prey density and host plant on intraguild predation of a native lacewing (*Chrysoperla carnea*) by an invasive coccinellid (*Harmonia axyridis*). *BioControl*. 1-12.
- Woodward, G., & Hildrew, A. G. 2002. Body size determinants of niche overlap and intraguild predation within a complex food web. *Journal of Animal Ecology*. 71(6): 1063-1074.
- Ximénez-Embun, M., Zaviezo, T. & Grez, A. 2013. Seasonal, spatial and diel partitioning of *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) predators and predation in alfalfa fields. *Biological Control*. 69: 1-7.
- Yang, F., Wang, Q., Wang, D., Xu, B., Xu, J., Lu, Y., & Harwood, J. D. 2017. Intraguild Predation Among Three Common Coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) in China: Detection Using DNA-Based Gut-Content Analysis. *Environmental Entomology*. 46(1): 1-10
- Yasuda, H., Evans, E. W., Kajita, Y., Urakawa, K. & Takizawa, T. 2004. Asymmetric larval interactions between introduced and indigenous ladybirds in North America. *Oecologia*. 141: 722-731.
- 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: 646-656.
- Zúñiga, E., Van den Bosch, R., Drea, J.J. & Gruber, F. 1986. Control biológico de áfidos (Homoptera: Aphididae) de cereales en Chile. II. Obtención, introducción y cuarentena de depredadores y parasitoides. *Agricultura Técnica*. 46: 479-487.