



UNIVERSIDAD DE CHILE – FACULTAD DE CIENCIAS – ESCUELA DE PREGRAGO

**“FRECUENCIA DE VISITAS DE COCCINÉLIDOS
NATIVOS Y EXÓTICOS A ÁFIDOS CENTINELA EN ALFALFA”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Bióloga con mención en Medio Ambiente.

María Gabriela Molina Yapoudjian

Directora del seminario de título: Audrey A. Grez Villarroel

Co-Directora del seminario de título: Tania Zaviezo Palacios

Mayo, 2021
Santiago, Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la **Srta. María Gabriela Molina Yapoudjian**.

“Frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos a áfidos centinela en alfalfa”

Ha sido aprobado por la comisión de evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al título de Bióloga con mención en Medio Ambiente.

Mg. Audrey Grez Villarroel

Directora Seminario de título

Dra. Tania Zaviezo Palacios

Co-Directora de Tesis

Comisión Revisora y Evaluadora:

Dr. Claudio Veloso Iriarte

Presidente Comisión

Dra. Carezza Botto Mahan

Evaluadora

Santiago de Chile, mayo de 2021.

Biografía



María Gabriela Molina nació al comenzar la primavera de 1994 en Santiago de Chile, la primera de tres hermanas, hija de madre uruguaya y padre chileno. Su interés por la naturaleza la llevó a iniciar sus estudios en biología, ingresando a la Facultad de Ciencias el 2014 a la carrera de Biología Ambiental. Con el paso de los años, el interés se transformó en admiración, generando un vínculo especial con la biodiversidad autóctona de este territorio en Sudamérica.

Agradecimientos

Este proyecto se llevó a cabo gracias al apoyo que me brindaron muchas personas.

En primer lugar a mi tutora Audrey por guiarme y enseñarme con total compromiso. A mi cotutora Tania por sus comentarios que fueron de mucha ayuda. A Elizabeth Gazzano por su increíble apoyo y alegría durante todo el proceso. A Marcela Cordero por su compañía y dedicación. Al resto de mis compañeros del LEAF: Viole, Romi, Jorge, Marly, Karla, Panchi y Rodrigo, por las reflexiones, apoyo y buena onda. Agradezco profundamente a Roberto Trincado, Rodrigo Barahona y Andres Taucare por ayudarme en la identificación de algunos enemigos naturales y a David Véliz por su disposición en solucionar mis consultas. Agradezco también a mi compañero y amigos Carlos, Fran, Pablo, Cona y Valeria por el cariño. Y por supuesto a mi familia por apoyarme incondicionalmente.

Este Seminario de Título fue financiado por el proyecto FONDECYT 1180533.

Índice de contenidos

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	4
Objetivos	8
Materiales y Métodos	8
Resultados	14
Discusión	26
Conclusiones	32
Referencias	33
Anexos	39

Índice de tablas

Tabla 1. Detalle de los alfalfaes donde se realizaron los experimentos, entre el 30 de agosto y el 12 de septiembre 2019 (período A) y entre el 4 y el 30 de octubre 2019 (período B).	9
Tabla 2. Número total y porcentajes de visitas de especies de coccinélidos exóticos y nativos entre larvas (L) y adultos (A), a placas con áfidos centinela, durante el período de muestreo (entre el 30 agosto y el 30 de octubre 2019). Los porcentajes se calculan sobre el total de cada columna.	15
Tabla 3. Número total y porcentajes de visitas de familias de enemigos naturales a placas con áfidos centinela, durante el período de muestreo (entre el 30 agosto y el 30 de octubre 2019).	24
Tabla 4. Promedios de variables cuantitativas ponderadas con sus respectivos errores estándar (\pm EE) de las redes en condiciones de: a) mayor abundancia (>650) y b) menor abundancia (<360) de áfidos (<i>A. pisum</i> + <i>A. craccivora</i>) en los alfalfaes. La última fila muestra los valores de p de la prueba estadística de Wilcoxon. Diferencias significativas con $P<0,05$.	25
Tabla 1A. Variables cuantitativas ponderadas calculadas a través del paquete “ <i>Visualising bipartite networks and calculating some (ecological) indices</i> ” (Dormann y col., 2020) para cada fecha de muestreo (n=15), detallando su condición de mayor/menor abundancia de áfidos.	39

Índice de figuras

- Figura 1.** **a)** Placas de mica transparente con *A. pisum* (las cuatro a la izquierda) y *A. craccivora* (las dos a la derecha); **b)** Disposición de un grupo de seis placas con áfidos centinela, cuatro con *A. pisum* y dos con *A. craccivora*, entremezcladas; **c)** Vista del alfalfal con la disposición de una de las cámaras con su correspondiente grupo de áfidos centinela. 10
- Figura 2.** Porcentaje de visitas totales de coccinélidos exóticos (rojo) y nativos (verde) por alfalfal muestreado entre agosto y octubre de 2019. Cada barra representa las visitas proporcionales por alfalfal y los números sobrepuestos en las barras representan el número bruto de visitas. Los alfalfaes muestreados al principio de la temporada (agosto-septiembre) se nominan con la letra A y los muestreados más tardíamente (octubre) se nominan con la letra B. Sobre las barras se indican los resultados de la prueba de Fisher que compara la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos por alfalfal, indicando con asterisco diferencias significativas ($P < 0,05$). 17
- Figura 3.** Porcentaje de visitas de coccinélidos exóticos (rojo) y nativos (verde) por alfalfal muestreado entre agosto y octubre de 2019, a placas con **a)** *A. pisum*, y con **b)** *A. craccivora*. Cada barra representa las visitas proporcionales por alfalfal y los números sobrepuestos en las barras representan el número bruto de visitas. Los alfalfaes muestreados al principio de la temporada (agosto-septiembre) se nominan con la letra A y los muestreados más tardíamente (octubre) se nominan con la letra B. Sobre las barras se indican los resultados de la prueba de Fisher que compara la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos por alfalfal, indicando con asterisco diferencias significativas ($P < 0,05$). 19
- Figura 4.** Asociaciones entre, **a)** la abundancia de visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) (representados con verde) y **b)** 21

coccinélidos exóticos (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) (representados con rojo) a placas con áfidos centinela en función de la abundancia de las mismas especies de coccinélidos en el cultivo durante período de muestreo, entre agosto y octubre de 2019.

Figura 5. Asociaciones entre, **a)** la abundancia de visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) (representados con verde) y **b)** coccinélidos exóticos (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) (representados con rojo) a placas con áfidos centinela, en función de la abundancia de áfidos totales (*A. pisum* + *A. craccivora*) en el cultivo durante el período de muestreo, entre agosto y octubre de 2019. 22

Figura 1Aa. Redes bipartitas de interacciones presa-enemigo natural de áfidos en follaje de alfalfa durante el horario de mayor actividad de coccinélidos para los seis muestreos que mostraron una mayor abundancia de áfidos (>650 áfidos) en el cultivo entre el 30 de agosto y el 30 de octubre de 2019. La barra superior representa las especies de enemigos naturales registrados visitando las placas con áfidos centinela, y la barra inferior representa las dos especies de áfidos centinela utilizados para realizar el experimento. La escala se representa con el grosor de las barras color negro a la derecha de cada red. 40

Figura 1Ab. Redes bipartitas de interacciones presa-enemigo natural de áfidos en follaje de alfalfa durante el horario de mayor actividad de coccinélidos para los nueve muestreos que mostraron una menor abundancia de áfidos (<360 áfidos) en el cultivo entre el 30 de agosto y el 30 de octubre de 2019. La barra superior representa las especies de enemigos naturales registrados visitando las placas con áfidos centinela, y la barra inferior representa las dos especies de áfidos centinela utilizados para realizar el experimento. La escala se representa con el grosor de las barras color negro a la derecha de cada red. 42

Resumen

Los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) son reconocidos por su importancia como agentes de control biológico. En Chile son abundantes y diversos en alfalfa (*Medicago sativa* L.), cultivo que tiene como plagas más abundantes los áfidos. El objetivo general de este estudio fue estimar, a partir del monitoreo digital de áfidos centinelas, el rol de coccinélidos nativos y exóticos en el consumo de áfidos en alfalfa y su participación en las redes tróficas, en escenarios con distinta abundancia de presas. Específicamente, los objetivos fueron: (1) conocer las especies de coccinélidos potenciales consumidoras de áfidos; (2) evaluar si la frecuencia de visitas a áfidos centinela varía entre coccinélidos nativos y exóticos; (3) evaluar si las visitas de coccinélidos nativos y exóticos a áfidos centinela varía según la abundancia de ellos y de áfidos en el cultivo; y (4) analizar las redes tróficas en condiciones de mayor y menor abundancia de áfidos en el cultivo. Para esto se realizaron experimentos con áfidos centinela en 15 oportunidades durante la primavera de 2019 en cultivos de alfalfa al sur de la Región Metropolitana. Los experimentos fueron monitoreados con cámaras de videos para registrar las especies de enemigos naturales que visitaron las placas. De las 750 horas de grabación recopiladas se registró un total de 2369 visitas de coccinélidos. Ellos fueron los artrópodos afidófagos más comunes en alfalfa, con sobre el 86% del total de visitas. Se registraron tres especies exóticas y dos nativas, con la exótica *Hippodamia variegata* (Goeze) representando cerca del 70% de las visitas. Le siguieron las nativas *Eriopis chilensis* Hofmann (15,6%) y *Eriopis eschscholtzii* Mulsant (11,2%). En una menor proporción ocurrieron las visitas de *Hippodamia convergens* Guerin–Meneville (2,1%) y *Harmonia axyridis* (Pallas) (1,5%). La frecuencia de visitas de coccinélidos exóticos a placas con áfidos centinela fue significativamente mayor (73,2%) que la de nativos (26,8%) ($P < 0,05$). Por otra parte, los registros de coccinélidos visitando áfidos centinela y la abundancia de las mismas especies de coccinélidos en el cultivo mostraron una asociación positiva y significativa, indicando que la metodología utilizada registra de manera adecuada estas interacciones. Se encontró también una correlación negativa y significativa entre las visitas de coccinélidos nativos y la abundancia de áfidos en el cultivo lo cual apoya resultados de estudios previos que muestran el importante rol de las especies nativas en el control

biológico de áfidos en alfalfa. Los índices cuantitativos calculados para las redes tróficas no variaron significativamente entre condiciones de mayor y menor abundancia de áfidos. Los resultados de este estudio, comparados con evaluaciones similares en el pasado, sugieren que las especies nativas de coccinélidos han disminuido su abundancia en alfalfa en los últimos años, y pone de relieve la idea de tomar medidas que permitan favorecer mecanismos para incrementar los niveles de depredadores naturales, por sobre el uso de agroquímicos generalistas.

Abstract

Coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) are recognized for their importance as biological control agents. In Chile they are abundant and diverse in alfalfa (*Medicago sativa* L.), a crop whose most abundant pests are aphids. The general objective of this study was to estimate, from digital monitoring of sentinel aphids, the role of native and exotic coccinellids in the consumption of aphids in alfalfa and their participation in the trophic networks, in scenarios with different abundance of aphids. Specifically, the objectives were to: (1) know the potential coccinellid species that consume aphids; (2) evaluate if the frequency of visits to sentinel aphids varies between native and exotic coccinellids; (3) evaluate if the visits of native and exotic coccinellids to sentinel aphids vary according to the abundance of them and of aphids in the crop; and (4) analyze the trophic networks under conditions of high and low abundance of aphids in the crop. For this, experiments with sentinel aphids were carried out 15 times during the spring of 2019 in alfalfa crops in the south of the Metropolitan Region. The experiments were monitored with video cameras to record the natural enemies species that visited the cards. Within the 750 hours of recording collected, a total of 2369 visits by coccinellids were recorded. They were the most common aphidophagous arthropods in alfalfa, with over 86% of the total visits. Three exotic and two native species were recorded, with the exotic *Hippodamia variegata* (Goeze) representing about 70% of the visits, followed by the native *Eriopsis chilensis* Hofmann (15.6%) and *Eriopsis eschscholtzii* Mulsant (11.2%).

Visits by *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (2.1%) and *Harmonia axyridis* (Pallas) (1.5%) occurred in a smaller proportion. The frequency of visits of exotic coccinellids to cards with sentinel aphids was significantly higher (73.2%) than that of natives (26.8%) ($P < 0.05$). On the other hand, the records of coccinellids visiting sentinel aphids and the abundance of the same species of coccinellids in the crop showed a positive and significant association, indicating that the methodology used adequately records these interactions. A negative and significant correlation was also found between the visits of native coccinellids and the abundance of aphids in the crop, which supports the results of previous studies that show the important role of native species in the biological control of aphids in alfalfa. The quantitative indices calculated for the trophic webs did not vary significantly between conditions of high and low abundance of aphids. The results of this study, compared with similar evaluations in the past, suggests that native species of coccinellids have decreased their abundance in alfalfa crops in recent years, which highlights the idea of taking measures to favor mechanisms to increase the levels of natural predators, over the use of general agrochemicals.

Introducción

El continuo aumento de la población humana a nivel global produce inevitables presiones en la naturaleza (Eigenbrod y col., 2011). Este aumento poblacional va ligado a una intensificación en la agricultura, lo cual ha generado una pérdida significativa de hábitats naturales, disminuyendo la biodiversidad y la complejidad de los ecosistemas (Tilman, 2001; Power, 2010). La simplificación de ecosistemas agrícolas impacta negativamente el servicio de control biológico, debido a la pérdida de las especies que llevan a cabo las interacciones que dan sustento al proceso ecológico, que es clave en un manejo integrado y sustentable de áreas cultivadas.

El control biológico es un servicio ecosistémico llevado a cabo por las comunidades de enemigos naturales nativos y exóticos que habitan los cultivos y sus alrededores, regulando las abundancias poblacionales de diversas plagas agrícolas, evitando que éstas se desarrollen a un nivel dañino para la producción (Cardinale y col., 2003). Existe evidencia que los paisajes agrícolas más complejos o diversos, a distintas escalas espaciales, presentan comunidades más ricas y abundantes de enemigos naturales y una menor presión de plagas en comparación a cultivos agrícolas en paisajes más homogéneos y con comunidades más simples (Bianchi y col., 2006; Snyder y col., 2006; Straub & Snyder, 2008). Sin embargo, es clave analizar cada ensamble en particular para entender la causa de dicho fenómeno, debido a que un aumento en la diversidad de especies de enemigos naturales no siempre reduce la población de plagas agrícolas (Straub y col., 2008). Esto dependerá de las interacciones presentes en la comunidad del agroecosistema. Si entre ellas ocurren interacciones antagonistas, como la depredación intragremio, el control biológico probablemente disminuirá con el aumento de la diversidad de enemigos naturales (Snyder & Evans 2006; Zaviezo y col., 2019). Por el contrario, si las especies interactúan positivamente, de manera complementaria o sinérgica, repartiéndose o facilitando el acceso a sus presas, el control de plagas será mayor en comunidades más diversas de enemigos naturales (Losey & Denno, 1998b). Cuando las especies actúan complementariamente, el servicio de control aumenta y además se genera una red

comunitaria más estable frente a perturbaciones (Snyder y col., 2005; Grez y col., 2007; Paredes y col., 2013; Ximénez-Embun y col., 2014).

Los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) son reconocidos a nivel global por su importancia como agentes de control biológico. Habitan casi todos los ecosistemas terrestres y suelen alimentarse de diversos grupos de insectos tales como áfidos (Hemiptera: Aphididae), escamas (Hemiptera: Coccoidea), moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae), trips (Thysanoptera: Thripidae), cicadélidos (Hemiptera: Cicadellidae), psílidos (Hemiptera: Psyllidae), larvas pequeñas y huevos de lepidópteros y coleópteros y ácaros fitófagos (Kundoo & Khan, 2017). En Chile, los coccinélidos son abundantes y diversos en alfalfa (*Medicago sativa* L.) (Fabales: Fabaceae), cultivo que tiene como finalidad principal producir forraje para el ganado. Las plagas más comunes de alfalfa son los áfidos o pulgones, principalmente *Acyrtosiphon pisum* (Harris), *Aphis craccivora* Koch y *Therioaphis trifolii* (Monell) (Grez y col., 2014a). Estos insectos son depredados, además de por coccinélidos, por una variedad de artrópodos tales como arañas (clase Arachnida), moscas sírfidas (Diptera: Syrphidae), chinches nábidos (Hemiptera: Nabidae), carábidos (Coleoptera: Carabidae), chinches antocóridos (Hemiptera: Anthocoridae), chinches geocóridos (Hemiptera: Geocoridae) y crisopas (Neuroptera: Chrysopidae). Estudios realizados en alfalfales en Chile central indican una marcada segregación temporal entre grupos de enemigos naturales; e.g. las larvas de moscas sírfidas presentes en primavera y verano durante la noche, los nábidos principalmente en verano durante el día y las arañas en otoño durante el día y la noche. A pesar de ello, los coccinélidos son los depredadores más frecuentes de áfidos a lo largo de toda la temporada (primavera, verano y otoño) (Ximénez-Embun y col., 2014), forrajeando más frecuentemente en el follaje de la alfalfa, y más activamente entre las 11 y 16 h del día (Ximénez-Embun y col., 2014).

Las comunidades de coccinélidos en alfalfales de Chile central están dominadas, en término de número de individuos, por coccinélidos de origen exótico, sin embargo la mayoría de las especies son de origen nativo. Entre las especies exóticas dominan *Hippodamia variegata* (Goeze) y *Harmonia axyridis* (Pallas), seguidas por *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville, *Scymnus loewii* Mulsant y *Adalia bipunctata* (Linnaeus).

Por su parte, entre las nativas *Eriopis chilensis* Hofmann es la más abundante, seguida por *Eriopis eschscholtzii* Mulsant, *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus), *Adalia angulifera* Mulsant, *Hyperaspis sphaeridioides* (Mulsant), *Adalia deficiens* Mulsant, *Scymnus bicolor* (Germain) y *Cycloneda fulvipennis* (Mulsant) (Grez y col., 2014a). A pesar de que los coccinélidos nativos son los menos abundantes en este cultivo, se ha descrito que estos juegan un papel importante en el control de áfidos, dando cuenta de la mayor cantidad de eventos de depredación en experimentos con áfidos centinela (Ximénez-Embun y col., 2014). Además, en alfalfaes con una mayor abundancia de coccinélidos nativos el servicio de control biológico de áfidos es también mayor (Grez y col., 2014b).

Sin embargo, se ha evidenciado una significativa disminución de la abundancia de coccinélidos nativos en alfalfaes de Chile central, lo que ha sido provocado por la creciente perturbación de hábitats, eliminación de bordes de hábitats naturales o seminaturales y la consecuente homogenización del paisaje (Grez y col., 2016). Al comparar los ensambles de coccinélidos entre hábitats con distintos grados de perturbación en esta zona, se ha observado que los coccinélidos nativos dominan en hábitats nativos o menos perturbados y lo contrario ocurre en cultivos altamente perturbados, donde dominan los coccinélidos exóticos (Grez y col., 2013). Además, se ha observado que, en la medida que los paisajes que rodean alfalfaes se hacen menos diversos en su composición y configuración, los coccinélidos nativos en este cultivo disminuyen en diversidad y abundancia (Grez y col., 2014b). Por otra parte, la disminución de coccinélidos nativos en alfalfaes de Chile central se ha visto fuertemente potenciada por la invasión del coccinélido *H. axyridis*, especie de origen asiático considerada invasora en muchas partes del mundo (Grez y col., 2016; Roy y col., 2016). A Chile llegó en la década del 2000, incrementando su abundancia rápidamente, llegando a alterar la composición del ensamble de depredadores, disminuyendo especialmente la abundancia y diversidad de coccinélidos nativos (Grez y col., 2014b, 2016, 2017). Muestreos en los últimos dos años en alfalfaes de la Región Metropolitana indican una disminución en la abundancia de *H. axyridis* y un cambio de dominancia por otra especie exótica, *H. variegata*, introducida en la década de 1970 (Rojas, 2005). Sin embargo, el cambio de dominancia no ha resultado en la recuperación de la diversidad de especies

nativas. Por lo tanto, esta disminución de los coccinélidos nativos en alfalfales en la zona central puede significar que en la actualidad estos ya no sean los principales depredadores de áfidos en este cultivo, lo que se evaluó en este Seminario de título.

La depredación de áfidos por parte de coccinélidos nativos y exóticos puede estudiarse a través de la metodología presa-centinela, que se basa en adherir presas vivas a un sustrato para posteriormente exponerlas a condiciones naturales durante períodos de tiempo establecidos y analizar la frecuencia de remoción y/o la mortalidad de las presas adheridas (Ximénez-Embun y col., 2014; Birkhofer y col., 2017; Lövei & Ferrante, 2017; Boetzl y col., 2019). Las especies que interaccionen negativamente con las presas pueden observarse a simple vista o a través de un monitoreo digital con cámaras de video. Este último método es muy práctico, puesto que evita perturbar el comportamiento de los enemigos naturales a causa de la presencia humana (Meyhöfer, 2001; Grieshop y col., 2012).

Las observaciones se pueden representar gráficamente en redes con distintos niveles tróficos. En este estudio, el nivel trófico inferior corresponde a las especies de áfidos en su estado adulto (herbívoros), quienes comparten los enemigos naturales (depredadores, parasitoides), los que corresponden al nivel trófico superior. La construcción de redes tróficas ayuda a visualizar las interacciones de la comunidad con un mayor grado de completitud, incluyendo la frecuencia o magnitud de cada interacción, lo que contribuye a entender de mejor manera las consecuencias que tiene la biodiversidad, en sí misma, en funciones ecosistémicas (Pascual & Dunne, 2006). Para caracterizar las redes a partir de observaciones empíricas se pueden calcular índices o variables cuantitativas, que describen su estructura tomando en consideración las especies presentes y la magnitud de sus interacciones.

La estabilidad de las redes ecológicas depende de distintos factores, entre los cuales está la cantidad y densidad de especies que las componen (Boetzl y col., 2019), pero principalmente de las conexiones que presenten dichas especies entre sí. No todas las especies presentan las mismas interacciones y la pérdida de especies altamente conectadas y frecuentes tienen el potencial de afectar más fuertemente la robustez de la red. La dinámica poblacional de las presas es otro factor importante que define parte de

las interacciones presa-depredador, habiendo especies de depredadores que se acoplan a las dinámicas de sus presas de mejor manera que otras. Estudiar la estructura de redes tróficas para cada caso en particular, es relevante para evitar la ocurrencia de factores que impulsen la pérdida de biodiversidad (e.g. las invasiones biológicas; Morris, 2010), y por lo tanto perjudiquen los servicios ecosistémicos como el control biológico.

El objetivo general de este estudio fue estimar, a partir de la vigilancia/monitoreo digital de áfidos centinelas, el rol de coccinélidos nativos y exóticos en el consumo de áfidos en alfalfa y su participación en las redes tróficas, en escenarios con distinta abundancia de presas. Específicamente, los objetivos fueron: (1) conocer las especies de coccinélidos consumidoras de áfidos; (2) evaluar si la frecuencia de visitas a áfidos centinela varía entre coccinélidos nativos y exóticos; (3) evaluar si las visitas de coccinélidos nativos y exóticos a áfidos centinela varía según la abundancia de ellos y de áfidos en el cultivo; y (4) analizar si las redes tróficas, considerando la totalidad de enemigos naturales registrados, varían con la abundancia de áfidos en el cultivo.

Materiales y Métodos

Sitios de muestreo

El estudio se llevó a cabo en cultivos de alfalfa ubicados en las comunas de Pirque (33°38'S; 70°33'W) y Calera de Tango (33°37'S; 70°46'W) en la Región Metropolitana. Se seleccionaron nueve alfalfaes, cinco en Pirque y cuatro en Calera de Tango, de entre 1 y 5 ha, con similar manejo y separado por al menos 2,3 km de distancia entre sí.

Durante la primavera de 2019, entre el 30 de agosto y el 30 de octubre, se realizaron en 15 oportunidades experimentos con presas-centinela (15 muestreos). Ocho de ellos se realizaron entre el 30 de agosto y el 12 de septiembre (período A) y siete entre el 4 y 30 de octubre (período B), siempre incluyendo alfalfaes ubicados en ambas comunas (Tabla 1).

Tabla 1. Detalle de los alfalfaes donde se realizaron los experimentos, entre 30 de agosto y 12 de septiembre 2019 (período A) y entre el 4 y 30 de octubre 2019 (período B).

Comuna	Alfalfal	Período A	Período B
Pirque	2	X	X
Pirque	19	X	
Pirque	14	X	X
Pirque	13	X	
Pirque	18	X	X
Calera de Tango	11	X	X
Calera de Tango	8	X	X
Calera de Tango	10		X
Calera de Tango	12	X	X

Como presas se utilizaron las especies de áfidos *A. pisum* y *A. craccivora*, ambas especies introducidas de origen Paleártico, principales presas de coccinélidos afidófagos en alfalfa en Chile central (Grez y col., 2014a). Debido a la gran cantidad de áfidos necesarios para llevar a cabo los experimentos, estos fueron criados previamente en plantas de habas (*Vicia faba* L.), bajo condiciones controladas, en el Laboratorio de Ecología de Ambientes Fragmentados (LEAF) de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

En placas rectangulares de mica transparente, de 50 x 15 mm, entre uno y dos días antes de cada experimento se adhirieron con adhesivo (marca Super 77 aerosol spray Scotch 3M) seis áfidos de una u otra especie a cada placa (Fig. 1a). Se mantuvieron a baja temperatura en un refrigerador y, al momento de transportarlas a terreno se dispusieron en una nevera portátil. En cada alfalfal, cuando el follaje tenía aproximadamente entre 30 y 70 cm de alto, se dispusieron 60 placas con áfidos-centinela, distribuidas en diez grupos de seis placas, separados por al menos 15 m entre sí. Cuatro placas contenían *A. pisum* y dos *A. craccivora*, las que se dispusieron entremezcladas, sostenidas en palos de cóctel de 20 cm de largo, quedando así a la altura del follaje (Fig. 1b). La dificultad en la crianza

de *A. craccivora* fue la causa por la que no se usó la misma cantidad de placas para ambas especies de áfidos.

Para monitorear las visitas de los enemigos naturales a las placas, a 2 m de cada grupo de placas se ubicó una cámara de video (marca Sony Handycam® HDR-CX675 de 9,2 megapíxeles + tarjeta de memoria marca Sony de 64 GB), con un total de 10 cámaras por alfalfal y fecha de muestreo (Fig. 1c). La vigilancia digital, o monitoreo por video, brinda información clara sobre la identidad taxonómica de enemigos naturales, el horario y la duración de los eventos de depredación (Grieshop y col., 2012). Los experimentos se llevaron a cabo entre las 11 y 16 h del día, debido a que es cuando los coccinélidos forrajean más activamente en alfalfa (Ximénez-Embun y col., 2014). Cada cámara de video registró depredadores visitando cada grupo de placas durante 5 horas de grabación, sumando para cada fecha un total de 50 horas de grabación. A las dos horas y media de haber comenzado las grabaciones se revisaron las placas con áfidos y, si alguna placa presentaba 50% o menos de los áfidos adheridos, se reemplazó la placa por una nueva. Los coccinélidos fueron identificados según González (2020).

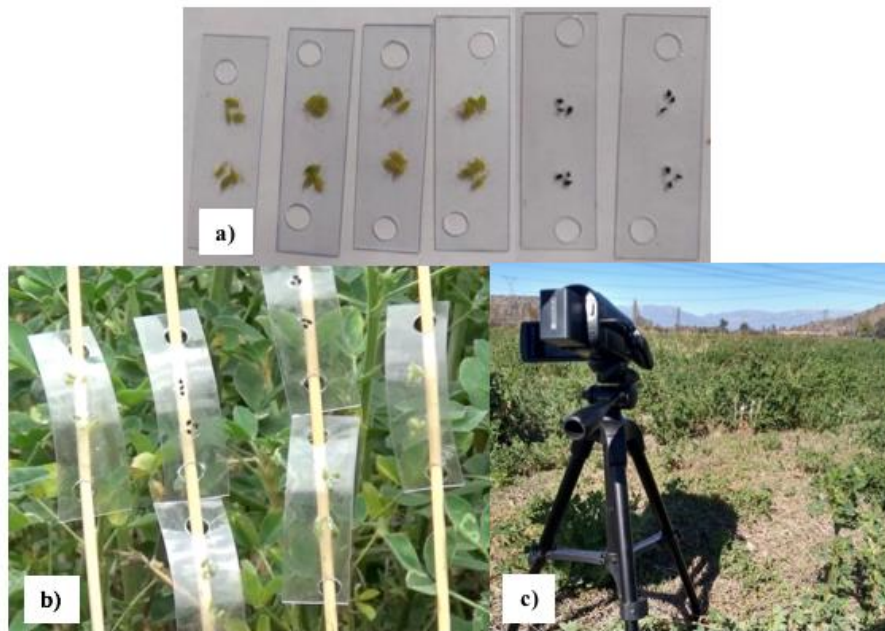


Figura 1. a) Placas de mica transparente con *A. pisum* (las cuatro a la izquierda) y *A. craccivora* (las dos a la derecha); b) Disposición de un grupo de seis placas con áfidos centinela, cuatro placas con *A. pisum* y dos con *A. craccivora*, entremezcladas; c) Vista del alfalfal con la disposición de una de las cámaras con su correspondiente grupo de áfidos centinela.

Abundancia de coccinélidos y áfidos

Para caracterizar la abundancia de coccinélidos en el alfalfal en cada fecha de muestreo, se utilizaron redes entomológicas de 30 cm de diámetro. Éstas se pasaron a nivel de follaje en cuatro áreas del cultivo, en un número de 50 redadas en cada área, totalizando 200 redadas por cada terreno. Los coccinélidos fueron identificados según González (2020). Paralelamente, para caracterizar la abundancia de áfidos en el cultivo, se colectaron tres ramillas de alfalfa, de aproximadamente 20 cm de largo, en cinco puntos distintos del alfalfal, reuniendo un total de quince ramillas del alfalfal por terreno. Éstas fueron guardadas en bolsas de papel para el posterior conteo en el laboratorio de los áfidos presentes en las ramillas.

Redes tróficas

Su construcción consideró, además de los coccinélidos, otros enemigos naturales que visitaron las placas con áfidos-centinela. Estos fueron identificados, en lo posible, a nivel de especie y cuando no se lograba identificar como tal, se agrupó como morfoespecie o morfotipo. Para la identificación se recurrió a literatura (Borrór y col., 1989; McGavin 2005; Rojas, 2005; Peña, 2006; Solervicens, 2014) y consulta a expertos.

Mediante el software *Food Web Designer 3.0* (Sint & Traugott, 2015) se construyeron las redes a partir de los registros totales. Las visitas de *A. craccivora* se duplicaron para hacer válida la comparación entre especies de áfidos. Para graficar la magnitud de cada interacción se utilizó la proporción de visitas según especie de áfido visitado respecto del total de visitas de enemigos naturales registradas. Se construyeron quince redes, una por fecha de muestreo, las que se agruparon en dos grupos: redes en condiciones de mayor

abundancia de áfidos en el cultivo (más de 650 áfidos colectados por alfalfal), y redes en condiciones de menor abundancia de áfidos (menos de 360 áfidos).

Análisis de datos

Para conocer las especies de coccinélidos consumidores de áfidos (Objetivo 1), se revisaron las grabaciones registradas por las cámaras de video, y se identificaron a nivel de especie los coccinélidos afidófagos visitando las placas, detallando el número de veces que las visitaban y especificando la especie de áfido visitada. Cada vez que un coccinélido abandonaba la placa y volvía otro, se consideraba como otra visita. Se detalló si las visitas de coccinélidos correspondieron a larvas o adultos. El número total de visitas de especies se ordenó en tablas, calculando los porcentajes de visita para cada especie. Del mismo modo, se registraron también las visitas de otros enemigos naturales a las placas con áfidos centinela (Objetivo 4). En el caso de las hormigas (Formicidae), para evitar sobrestimar sus visitas producto su comportamiento grupal de forrajeo, se definió un rango de 10 minutos para considerar todas las visitas de hormigas que ocurrieran en ese período de tiempo como una visita.

Las frecuencias de visita a áfidos centinela por parte de coccinélidos nativos y exóticos (Objetivo 2) para la totalidad de alfalfales, por fecha de muestreo y según especie de áfido centinela visitada, se comparó a través de la prueba exacta de Fisher.

Las visitas de coccinélidos nativos y exóticos a las placas se relacionaron con las abundancias de los mismos coccinélidos en el cultivo, y también con la abundancia de áfidos (*A. pisum* + *A. craccivora*) (Objetivo 3), a través de correlaciones de Spearman. Adicionalmente para determinar si las frecuencias observadas de las especies de coccinélidos que visitaron las placas con áfidos centinela se ajustaron con las frecuencias esperadas (según sus abundancias en el cultivo) se llevó a cabo pruebas de G de bondad de ajuste.

Respecto a las redes tróficas en condiciones de mayor y menor abundancia de presas (Objetivo 4), se calcularon para cada fecha de muestreo ($n = 15$; Tabla 1A en Anexo) cinco variables cuantitativas y una cualitativa, a través del paquete “Visualising bipartite networks and calculating some (ecological) indices” (Dormann y col., 2020). Este

proporciona funciones para visualizar redes y calcular una serie de índices que se utilizan comúnmente para describir patrones en redes ecológicas, centrándose en redes de dos niveles. Se recomienda el uso de variables descriptivas cuantitativas, dado que los descriptores cualitativos son muy sensibles a la variación del esfuerzo de muestreo (Bersier y col., 2002). Los descriptores cuantitativos incorporan en su cálculo la magnitud de cada interacción, la cual varía entre especies, a diferencia de los descriptores cualitativos que asignan equivalente magnitud de interacción. Debido a esta diferencia en la magnitud de las interacciones, las variables se calcularon de manera ponderada para corregir un posible desequilibrio en los datos recopilados. Además de *i) el número de especies* de enemigos naturales registrados, se calculó *ii) la diversidad*, que corresponde a la diversidad de Shannon promedio de las interacciones de especies de enemigos naturales; *iii) la densidad de links* o *densidad de interacciones*, que corresponde a la densidad marginal ponderada de interacciones por especie, siendo el promedio de la vulnerabilidad y la generalidad (Bersier y col., 2002); *iv) la conectancia*, que corresponde a la densidad de links dividida por el número de especies en la red, índice que refleja las interacciones registradas respecto del total posible, tomando en consideración las especies no interactuantes; *v) la generalidad* y *vi) la vulnerabilidad* de la red, que corresponden al número promedio efectivo de especies de presas por especie de enemigo natural, y el número promedio efectivo de especies de enemigos naturales por especie de presa, respectivamente, ponderados por sus totales marginales (Williams & Martínez, 2000; Bersier y col., 2002; Dunne y col., 2004; Thielges y col., 2013). Los promedios de las variables de las redes tróficas a mayor y menor densidad de áfidos se compararon con la prueba de Wilcoxon Mann Whitney.

Resultados

Especies de coccinélidos consumidores de áfidos (Objetivo 1).

En cada fecha de muestreo, se recopilaron aproximadamente 50 horas de grabación (5 horas por cada agrupación de placas), totalizando 750 horas en los 15 muestreos realizados. En estos, se registró un total de 2369 visitas de coccinélidos, entre adultos y larvas, a las placas con áfidos centinela.

Las visitas correspondieron a coccinélidos de cinco especies, tres exóticas y dos nativas, siendo *H. variegata* la más frecuente, con 1650 visitas, entre larvas y adultos (69,7% del total), seguida por *E. chilensis*, con 370 visitas (15,6%) y *E. eschscholtzii*, con 265 visitas (11,2%) (Tabla 2). En una menor proporción se registraron 49 visitas de *H. convergens* (2,1%) y 35 visitas de *H. axyridis* (1,5%). En todas las especies de coccinélidos se observó una mayor cantidad de visitas de adultos que de larvas, con 2054 (86,7%) y 315 visitas (13,3%), respectivamente. Los registros brutos, sin estandarizar, indicaron un total de 1613 visitas a placas con *A. pisum*, y 756 visitas a placas con *A. craccivora* (Tabla 2).

Tabla 2. Número total y porcentajes de visitas de especies de coccinélidos exóticos y nativos entre larvas (L) y adultos (A), a placas con áfidos centinela, durante el período de muestreo (entre 30 agosto y 30 de octubre 2019). Los porcentajes de calculan sobre el total de cada columna.

Coccinélidos y estado	Especies de áfidos centinela		Total
	<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Harris)	<i>Aphis craccivora</i> Koch	
Exóticos	1201 (74,5%)	533 (70,5%)	1734 (73,2%)
<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas) (A)	21 (1,3%)	8 (1,1%)	29 (1,2%)
<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas) (L)	5 (0,3%)	1 (0,1%)	6 (0,3%)
<i>Hippodamia convergens</i> Guerin-Meneville (A)	23 (1,4%)	6 (0,8%)	29 (1,2%)
<i>Hippodamia convergens</i> Guerin-Meneville (L)	16 (1,0%)	4 (0,5%)	20 (0,8%)
<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze) (A)	977 (60,6%)	449 (59,4%)	1426 (60,2%)
<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze) (L)	159 (9,9%)	65 (8,6%)	224 (9,5%)
Nativos	412 (25,5%)	223 (29,5%)	635 (26,8%)
<i>Eriopsis chilensis</i> Hofmann (A)	209 (12,9%)	120 (15,9%)	329 (13,9%)
<i>Eriopsis chilensis</i> Hofmann (L)	34 (2,1%)	7 (0,9%)	41 (1,7%)
<i>Eriopsis eschscholtzii</i> Mulsant (A)	155 (9,6%)	86 (11,4%)	241 (10,2%)
<i>Eriopsis eschscholtzii</i> Mulsant (L)	14 (0,9%)	10 (1,3%)	24 (1,0%)
Total	1613 (100%)	756 (100%)	2369 (100%)

Frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos a placas con áfidos centinelas
(Objetivo 2).

En total, la frecuencia de visitas de coccinélidos exóticos a placas con áfidos centinela fue significativamente mayor (73,2%) que la de nativos (26,8%, $P < 0,05$) (Tabla 2). Al separar las visitas de coccinélidos exóticos y nativos según especie de áfido, en placas con *A. pisum* las visitas de exóticos superaron en 2,9 veces las de nativos (74,5% vs. 25,5%, $P < 0,05$) y en placas con *A. craccivora* las visitas de exóticos fueron 2,4 veces mayor que las de nativos (70,5% vs. 29,5%, $P < 0,05$) (Tabla 2). Tanto en coccinélidos nativos y exóticos y para ambas especies de áfidos, la mayor parte de las visitas fueron

de adultos, con la excepción de *H. convergens* en que la frecuencia de las visitas de larvas fueron similares a la de adultos (Tabla 2).

Los porcentajes de visitas por cada alfalfal (Fig. 2) indican que en once de quince muestreos, los alfalfaes tuvieron frecuencias significativamente mayores por parte de coccinélidos exóticos, y en cuatro de ellos se observaron exclusivamente visitas de exóticos. En sólo un alfalfal (8B) se observó una frecuencia significativamente mayor de coccinélidos nativos (Fig. 2). Los otros tres alfalfaes tuvieron frecuencias similares de nativos y exóticos. En la mayoría de los alfalfaes muestreados más tardíamente en la temporada, en octubre (aquellos nominados con la letra B, Fig. 2; Tabla 1), se registró un aumento en la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos en comparación a los alfalfaes muestreados a principios de la temporada, en agosto-septiembre (aquellos nominados con la letra A, Fig. 2; Tabla 1).

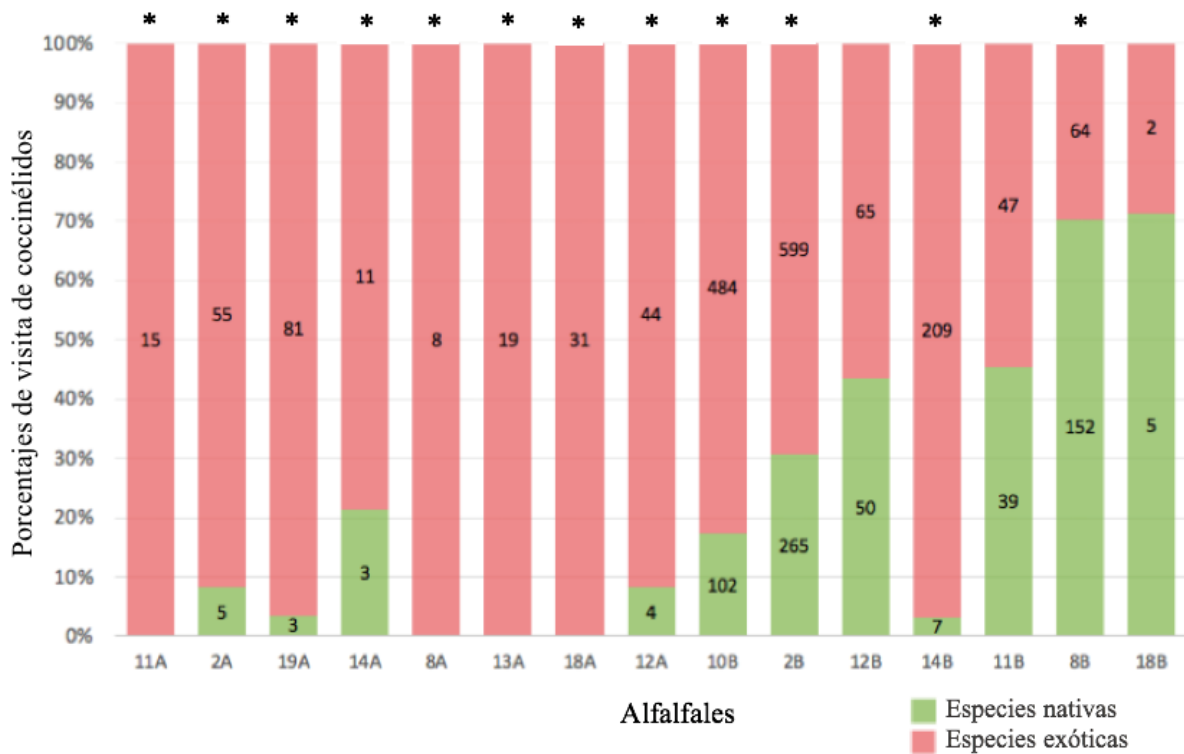
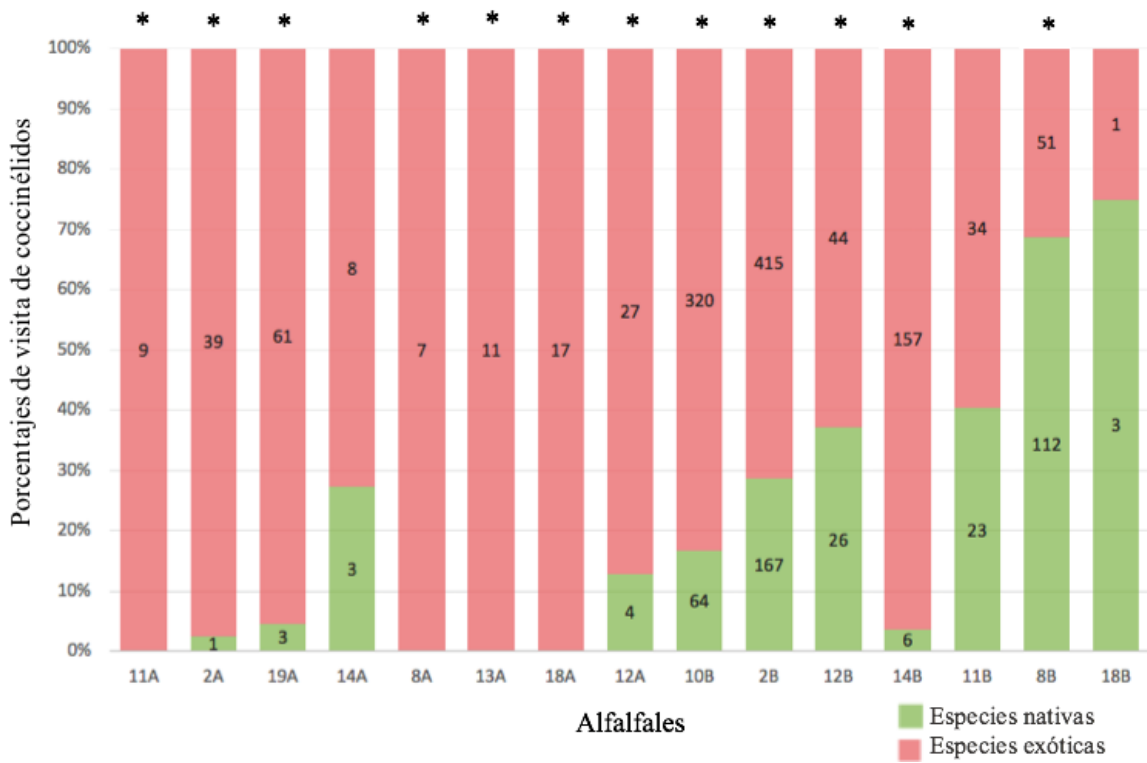


Figura 2. Porcentaje de visitas totales de coccinélidos exóticos (rojo) y nativos (verde) por alfalfal muestreado entre agosto y octubre de 2019. Cada barra representa las visitas proporcionales por alfalfal y los números sobrepuestos en las barras representan el número bruto de visitas. Los alfalfaes muestreados al principio de la temporada (agosto-septiembre) se nominan con la letra A y los muestreados más tardíamente (octubre) se nominan con la letra B. Sobre las barras se indican los resultados de la prueba exacta de Fisher que compara la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos por alfalfal, indicando con asterisco diferencias significativas ($P < 0,05$).

Pese al aumento de las visitas de coccinélidos nativos durante el segundo período de muestreo (octubre) (Fig. 3), considerando la totalidad de las visitas, se registraron frecuencias de visitas significativamente mayor por parte de coccinélidos exóticos que de nativos (*A. pisum*: 74,5% vs. 25,5%, $P < 0,05$; *A. craccivora*: 70,5% vs. 29,5%, $P < 0,05$, para exóticos y nativos, respectivamente; Tabla 2). Las visitas a placas con *A. pisum* mostraron que en 11 de los 15 muestreos en alfalfa se obtuvo una frecuencia significativamente mayor de visitas de coccinélidos exóticos que de nativos (Fig. 3a), y en placas con *A. craccivora* ocurrió en 9 de 15 alfalfa (Fig. 3b). Para ambos áfidos centinela, únicamente en un alfalfa (8B) se obtuvo una frecuencia de visitas significativamente mayor de coccinélidos nativos, y en tres y cinco alfalfa, en placas de *A. pisum* y *A. craccivora*, respectivamente, no hubo diferencias significativas en las frecuencias de visitas de coccinélidos nativos y exóticos (Fig. 3).

a) *A. pisum*



b) *A. craccivora*

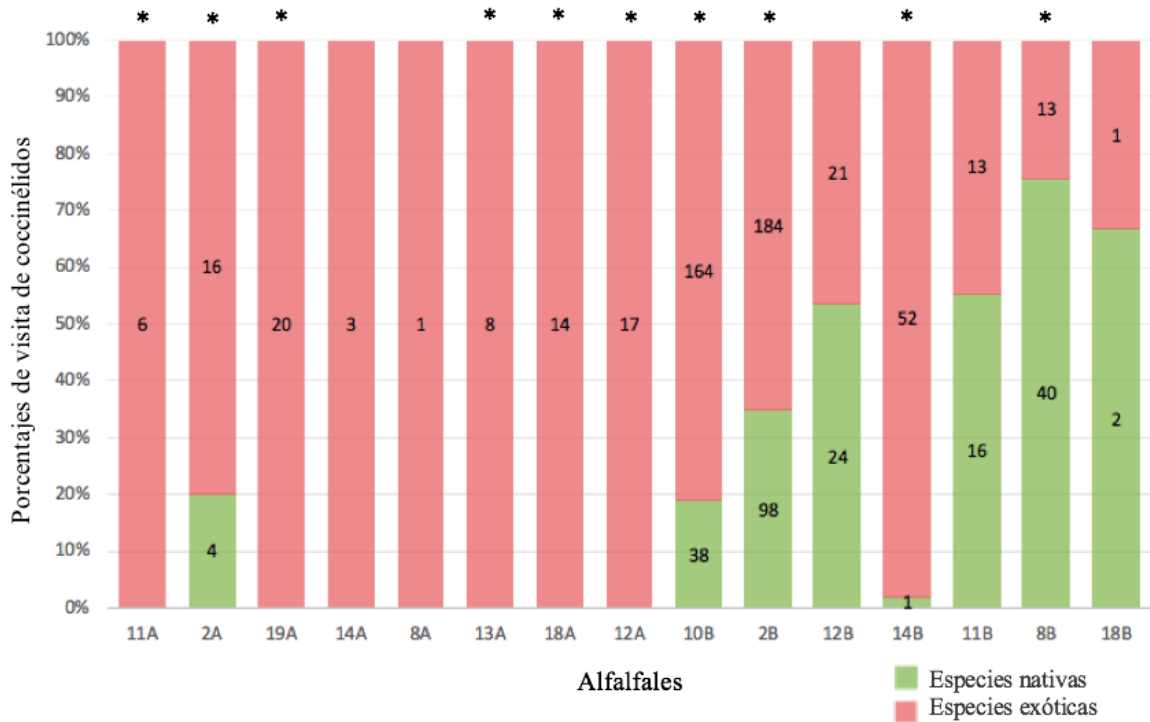


Figura 3. Porcentaje de visitas de coccinélidos exóticos (rojo) y nativos (verde) por alfalfal muestreado entre agosto y octubre de 2019, a placas con **a)** *A. pisum*, y con **b)** *A. craccivora*. Cada barra representa las visitas proporcionales por alfalfal y los números sobrepuestos en las barras representan el número bruto de visitas. Los alfalfaes muestreados al principio de la temporada (agosto-septiembre) se nominan con la letra A y los muestreados más tardíamente (octubre) se nominan con la letra B. Sobre las barras se indican los resultados de la prueba exacta de Fisher que compara la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos por alfalfal, indicando con asterisco diferencias significativas ($P < 0,05$).

Relación entre las visitas de coccinélidos a las placas con la abundancia de coccinélidos y de áfidos en el cultivo (Objetivo 3).

Se observó una correlación positiva y significativa entre las visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) y la abundancia de estos coccinélidos nativos en el cultivo (Fig. 4a). Similarmente, se observó una correlación positiva y significativa entre las visitas por especies exóticas (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) y la abundancia de estos coccinélidos exóticos en el cultivo (Fig. 4b).

A nivel de especie, las visitas de las nativas *E. chilensis* ($\rho=0,78$; $P < 0,05$) y *E. eschscholtzii* ($\rho=0,64$; $P < 0,05$) se asociaron positiva y significativamente con la abundancia de las mismas especies en el cultivo. Respecto a las especies exóticas, únicamente *H. variegata* ($\rho=0,67$; $P < 0,05$) mostró una asociación positiva y significativa entre las visitas con la abundancia en el cultivo (*H. convergens*: $\rho=0,35$; $P=0,20$; *H. axyridis*: $\rho=0,01$; $P=0,98$).

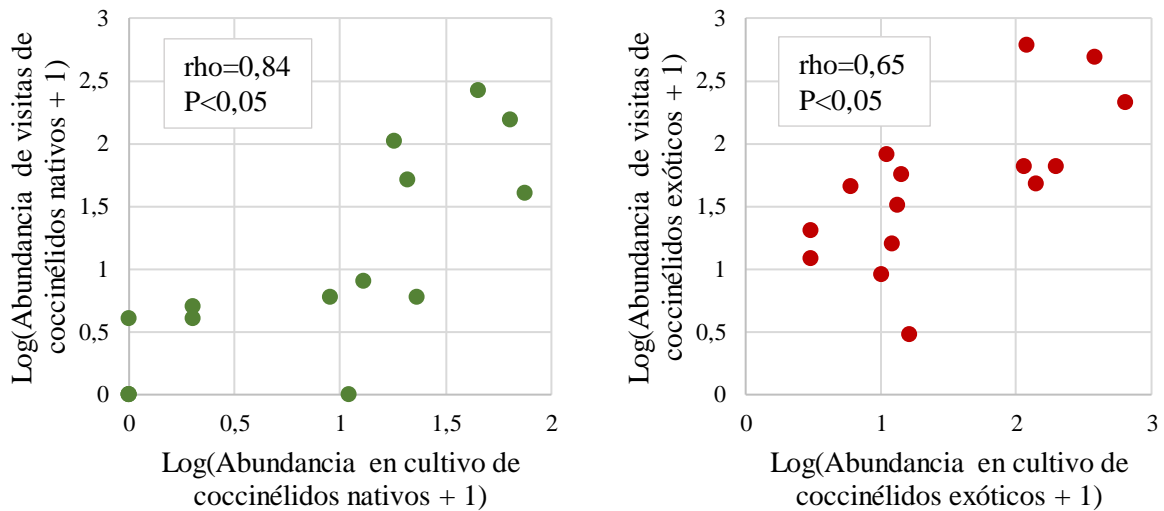


Figura 4. Asociaciones entre, **a)** la abundancia de visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) (representados con verde) y **b)** coccinélidos exóticos (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) (representados con rojo) a placas con áfidos centinela en función de la abundancia de las mismas especies de coccinélidos en el cultivo durante período de muestreo, entre agosto y octubre de 2019.

Por otra parte, las visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) se correlacionaron negativa y significativamente con la abundancia de los áfidos totales (*A. pisum* + *A. craccivora*) en los cultivos de alfalfa (Fig. 5a), a diferencia de lo que ocurrió con los coccinélidos exóticos (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) que no presentaron una correlación significativa (Fig. 5b).

A nivel de especie de coccinélido, las visitas de *E. chilensis* presentaron una correlación negativa y significativa con la abundancia de áfidos en alfalfa ($\rho=-0,64$; $P<0,05$), a diferencia de *E. eschscholtzii* que no mostró una correlación significativa ($\rho=-0,49$; $P=0,06$). Las visitas de las especies exóticas no se correlacionaron significativamente con la abundancia de áfidos totales en la alfalfa (*H. variegata* $\rho=-0,26$; $P=0,35$; *H. convergens* $\rho=-0,11$; $P=0,69$ y *H. axyridis* $\rho=0,33$; $P=0,23$).

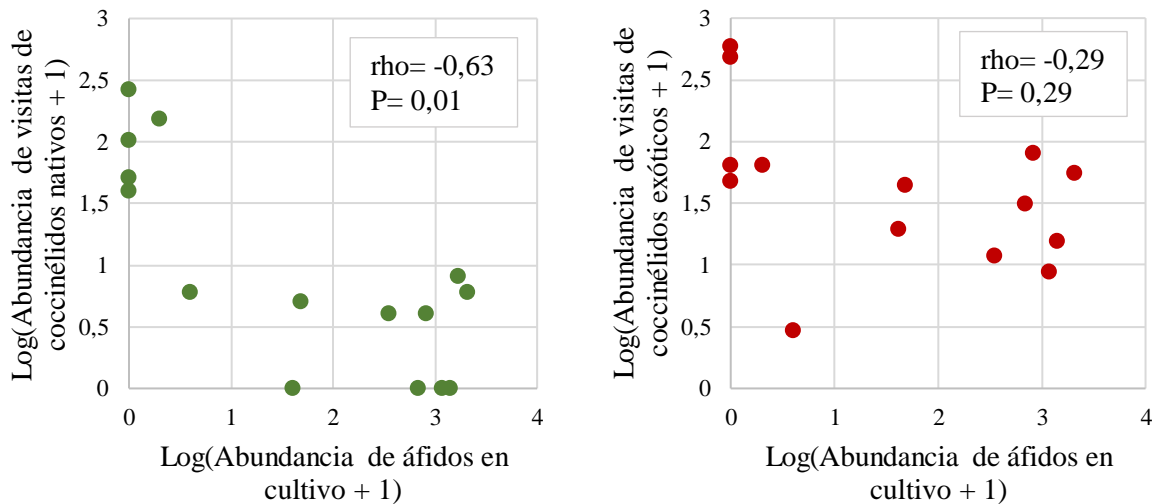


Figura 5. Asociaciones entre, **a)** la abundancia de visitas de coccinélidos nativos (*E. chilensis* + *E. eschscholtzii*) (representados con verde) y **b)** coccinélidos exóticos (*H. variegata* + *H. convergens* + *H. axyridis*) (representados con rojo) a placas con áfidos centinela, en función de la abundancia de áfidos totales (*A. pisum* + *A. craccivora*) en el cultivo durante el período de muestreo, entre agosto y octubre de 2019.

Las frecuencias observadas de ambos grupos de coccinélidos (635 visitas de especies exóticas y 1734 de especies exóticas) no se ajustaron a las frecuencias esperadas según sus abundancias en el cultivo ($G=248,10$; $P<0,05$). Los coccinélidos nativos registraron una frecuencia esperada de 0,1436 en el cultivo y los exóticos de 0,8564. La prueba de G indicó que los coccinélidos nativos resultaron visitar más de lo esperado las placas con áfidos centinela respecto a sus abundancias en el cultivo.

Para las especies de coccinélidos nativos, las frecuencias observadas para *E. chilensis* y *E. eschscholtzii* fueron de 370 y 265 visitas, respectivamente. Estas frecuencias tampoco se ajustaron a las frecuencias esperadas (*E. chilensis*: 0,7206; *E. eschscholtzii*: 0,2794). La prueba de G indicó que *E. eschscholtzii* resultó visitar más de lo esperado las placas con áfidos centinela respecto a sus abundancias en el cultivo ($G=55,43$; $P<0,05$).

Por último para las especies exóticas, las frecuencias observadas para *H. variegata*, *H. convergens* y *H. axyridis* fueron de 1650, 49 y 35 visitas respectivamente. Estas

frecuencias tampoco se ajustaron a las frecuencias esperadas (*H. variegata*: 0,9704; *H. convergens*: 0,0151 y *H. axyridis*: 0,0145). La prueba de G indicó que *H. convergens* y *H. axyridis* resultaron visitar más de lo esperado las placas con áfidos centinela respecto a sus abundancias en el cultivo (G=19,86; P<0,05).

Red trófica de los enemigos naturales que visitaron áfidos (Objetivo 4)

Del total de visitas de enemigos naturales que se registraron visitando las placas con áfidos centinela (2749 visitas), el 86,2% (2369 visitas) fueron coccinélidos, detalladas en las secciones previas, y el 13,8% restante (380 visitas) fueron visitas de otros enemigos naturales (Tabla 3). La mayor parte de estos otros enemigos naturales fueron hormigas (Formicidae), representando el 6,8% del ensamble, seguido por parasitoides (Braconidae) con un 4%, moscas sírfidas (Syrphidae) con 1,8%, arañas cangrejo (Thomisidae) con 1%, y con la menor participación, las arañas saltarinas (Salticidae) y carábidos (Carabidae) con un 0,1% cada uno (Tabla 3).

Las hormigas registraron 188 visitas, con un porcentaje de 7% y 6,5% a placas con *A. pisum* y *A. craccivora*, respectivamente (Tabla 3). No fue posible identificar a nivel de especie las hormigas dada la resolución del video, por lo que para la construcción de las redes se agruparon todas las visitas de esta familia como un mismo morfotipo.

Con un total de 110 visitas, los parasitoides mostraron un porcentaje de visita de 4,1% y 3,7% a las placas con *A. pisum* y *A. craccivora*, respectivamente (Tabla 3). Al igual que las hormigas, las visitas de la familia Braconidae se agruparon como un mismo morfotipo. Las moscas sírfidas registraron 48 visitas de adultos pertenecientes a seis especies: *Platycheirus chalconota* (Philippi) con 33 visitas, *Austroscaeva melanostoma* (Macquart) y *Toxomerus calceolatus* (Macquart) con seis visitas cada una, *Toxomerus vertebratus* (Rondani), *Allograpta pulchra* Shannon y *Syrphus reedi* (Shannon), con una visita cada una. Debido a que las moscas sírfidas adultas se alimentan de néctar y polen, se omitieron para la construcción de las redes tróficas, sin embargo se mencionan acá pues son indicadoras de la presencia de larvas, que sí son afidófagas.

La clase Arachnida registró un total 31 visitas de individuos de la familia Thomisidae, (1% del ensamble) y la familia Salticidae (0,1%) (Tabla 3). La primera son las conocidas

arañas cangrejos, siendo *Misumenops temibilis* (Holmberg) la única especie registrada de este género en Chile, la que al igual que las moscas sírfidas, mostró el doble de visitas a placas con *A. craccivora* (1,7%) que con *A. pisum* (0,8%) (Tabla 3). Esta se consideró como una morfoespecie para la construcción de las redes. Por otro lado, las únicas dos visitas que registró la familia Salticidae fueron a placas con *A. pisum* (0,1%) (Tabla 3). No se identificaron a nivel de especie, y se agruparon en dos morfoespecies distintas. Los carábidos registraron sólo tres visitas a placas con *A. pisum*, representando el 0,2% de las visitas que recibió dicho áfido centinela (Tabla 3). No fue posible identificar a nivel de especie dada la resolución del video y por lo tanto se agruparon en un mismo morfotipo.

Tabla 3. Número total y porcentajes de visitas de familias de enemigos naturales a placas con áfidos centinela, durante el período de muestreo (entre 30 agosto y 30 de octubre 2019).

Enemigos naturales	Áfidos centinela		Total
	<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Harris)	<i>Aphis craccivora</i> Koch	
Braconidae	77 (4,1%)	33 (3,7%)	110 (4%)
Carabidae	3 (0,2%)	0 (0%)	3 (0,1%)
Coccinellidae	1613 (86,7%)	756 (85%)	2369 (86,2%)
Formicidae	130 (7%)	58 (6,5%)	188 (6,8%)
Salticidae	2 (0,1%)	0 (0%)	2 (0,1%)
Syrphidae	21 (1,1%)	27 (3,1%)	48 (1,8%)
Thomisidae	14 (0,8%)	15 (1,7%)	29 (1%)
Total	1860 (100%)	889 (100%)	2749 (100%)

Para el escenario de mayor abundancia de áfidos se utilizaron seis de los 15 muestreos, aquellos que registraron una abundancia mayor a 650 (*A. pisum* + *A. craccivora*) en el alfalfal. Estos correspondieron a los alfalfaes 2A, 14B, 11A, 8A, 19A y 18A. Para el escenario de menor abundancia de áfidos se utilizaron nueve de los 15 muestreos, aquellos con menos de 360 áfidos. Estos correspondieron a los alfalfaes 14A, 13A, 12A, 18B, 8B, 10B, 2B, 12B y 11B. El detalle de las redes tróficas de cada muestreo se muestra en el Anexo, Fig. 1Aa y 1Ab.

Los promedios y errores estándar de las variables cuantitativas de las redes en condiciones de mayor y menor abundancia de áfidos se muestran en la Tabla 4. Si bien el escenario de menor abundancia muestra índices levemente mayores para el número promedio de enemigos, diversidad Shannon, densidad de links, generalidad y vulnerabilidad, la prueba estadística de Wilcoxon Mann Whitney indicó que no hubo diferencias significativas en las variables descriptivas cuantitativas entre los escenarios de mayor y menor abundancia de áfidos (Tabla 4). Esto indica que los patrones de red no se ven significativamente afectados entre ambas condiciones.

Tabla 4. Promedios de variables cuantitativas ponderadas con sus respectivos errores estándar (\pm EE) de las redes en condiciones de: **a)** mayor abundancia (>650) y **b)** menor abundancia (<360) de áfidos (*A. pisum* + *A. craccivora*) en los alfalfaes. La última fila muestra los valores de P de la prueba estadística de Wilcoxon Mann Whitney. Diferencias significativas con $P < 0,05$.

Áfidos	Variables cuantitativas (Promedios ponderados)					
	Nº de especies de enemigos	Diversidad de enemigos (Shannon)	Densidad de links	Conectancia	Generalidad	Vulnerabilidad
a) Mayor abundancia (n = 6)	4,17 \pm 0,75	0,57 \pm 0,03	2,01 \pm 0,15	0,34 \pm 0,03	1,77 \pm 0,05	2,25 \pm 0,28
b) Menor abundancia (n = 9)	6,00 \pm 0,37	0,70 \pm 0,11	2,49 \pm 0,19	0,31 \pm 0,02	1,83 \pm 0,03	3,16 \pm 0,40
Wilcoxon P-valores	0,10	0,27	0,15	0,39	0,27	0,15

Discusión

Composición y frecuencia del ensamble de coccinélidos nativos y exóticos.

En este trabajo se buscó caracterizar la composición y frecuencia de visitas de enemigos naturales a placas con áfidos centinelas, poniendo especial atención a los coccinélidos, que son los enemigos naturales de áfidos más abundantes en alfalfa de Chile central según varios estudios que han utilizado otras técnicas de muestreo, como redes entomológicas, trampas Barber o trampas amarillas pegajosas (Grez y col., 2010, 2013; Oberti, 2020). La frecuencia de visitas a las placas con áfidos centinelas observadas en este estudio corroboró que los coccinélidos son los artrópodos afidófagos más comunes en alfalfa, con sobre el 86% del total de visitas durante el período muestreado. Esta familia de insectos estuvo compuesta por tres especies exóticas y dos nativas. Este es un bajo número de especies en comparación a las cerca de 16 especies descritas en total y 11 en promedio por alfalfa que solían habitar los alfalfaes de esta región a inicios de las últimas dos décadas, en su gran mayoría nativas (Grez y col., 2016). Esta menor riqueza puede deberse, por un lado, a que con la homogeneización del paisaje y la invasión de *H. axyridis*, la diversidad de especies de coccinélidos nativos ha disminuido significativamente (Grez y col., 2016, 2021), estando ahora dominado por pocas especies exóticas. En especial, *H. variegata* se ha tornado especialmente abundante luego de que las poblaciones de la invasora *H. axyridis* disminuyeran en los últimos años (Grez y col., 2021). Esta dominancia de *H. variegata* se corrobora en este estudio, correspondiendo a cerca del 70% de las visitas a placas con áfidos centinelas, entre adultos y larvas. Por otra parte, también es muy probable que este bajo número de especies de coccinélidos observados se deba a que los muestreos realizados en el presente estudio se concentraron en un corto período de la temporada, entre fines de agosto y fines de octubre, dando cuenta sólo de un subconjunto de las especies que colonizan los alfalfaes en distintas épocas de primavera y verano. Por ejemplo, algunas especies, como la nativa *H. sphaeridioides*, es más abundante tardíamente en la temporada, en meses más cálidos, durante diciembre-enero (Oberti, 2020) y por ello no habría estado presente en los muestreos de este estudio. Sin embargo, al comparar nuestros resultados con los obtenidos en la misma época de primavera de 2009 por Ximénez-Embun y col. (2014) usando un método similar de placas

con áfidos centinelas, sugiere una disminución en la frecuencia de visitas de coccinélidos nativos. Ello es preocupante por cuanto se ha evidenciado que los coccinélidos nativos cumplen un rol fundamental en el control de poblaciones de áfidos en alfalfa de Chile central, siendo este servicio mayor en alfalfa que tienen una mayor abundancia de coccinélidos nativos (Grez y col., 2014b).

¿Por qué podría *H. variegata* estar hoy en día dominando los alfalfa? Existe evidencia que la voracidad, canibalismo y la competencia entre la nativa *E. chilensis* y la exótica *H. variegata* son muy similares, por lo que estos mecanismos no explicarían la mayor abundancia de la exótica (Grez y col., 2011). Sin embargo, *E. chilensis* es más sensible a la disminución en la abundancia de áfidos que *H. variegata*, afectándose negativamente su reproducción (Grez y col., 2011). Otro factor que podría estar afectando este escenario es que *H. variegata* puede ser más eficiente al momento de buscar presas a través de un mecanismo mediado por señales químicas emitidas por las poblaciones de presas, en comparación a *E. chilensis* que, además, según experimentos de olfatometría, evita a *H. variegata* (Tapia y col., 2010). Adicionalmente, análisis moleculares de la dieta sugieren que *H. variegata* puede consumir varias otras presas aparte de los áfidos y eso le podría facilitar su permanencia en altas densidades en el cultivo, incluso cuando los áfidos son escasos (Romero, 2021).

La menor frecuencia de visita registrada por la invasora *H. axyridis* llama la atención, debido a que en años anteriores era la especie dominante. Esta especie se caracteriza por su alta voracidad y depredación intragremio (Grez y col., 2016, 2017; Zaviezo y col., 2019), siendo más frecuente a comienzos de temporada, cuando hay una mayor densidad de áfidos en los alfalfa (Oberti, 2020). Además, prefiere condiciones de menor temperatura ambiental, como las que se dan en primavera temprana (Barahona-Segovia y col., 2016). Su menor frecuencia en el presente estudio, que se realizó en condiciones favorables para *H. axyridis*, puede sugerir, junto a otras evidencias, que *H. axyridis* estaría reduciendo sus poblaciones en comparación al inicio de la invasión. La gran voracidad y dependencia de *H. axyridis* por áfidos (Zaviezo y col., 2019; Rondoni y col., 2020) para cubrir sus requerimientos energéticos (Michaud, 2012), podría no beneficiar la permanencia de sus poblaciones a lo largo de toda la temporada, ya que la abundancia

poblacional de áfidos en los alfalfaes no es siempre alta en la temporada (Oberti, 2020). Es posible que su disminución haya reducido las interacciones interespecíficas antagonistas y asimétricas que sostenían (Zaviezo y col., 2019), dando espacio para que otras especies aumentaran su abundancia relativa, como pudo haber ocurrido con *H. variegata*. Adicionalmente, la menor tolerancia a altas temperaturas por parte de *H. axyridis* podría liberar competitivamente a *H. variegata* en las épocas de mayor calor, especie que no presenta dicha limitación térmica (Barahona-Segovia y col., 2016).

La tercera especie exótica registrada, en menor frecuencias, fue *H. convergens*. Esta fue la única especie que tuvo frecuencias similares de larvas y adultos visitando las placas. Las visitas de las otras especies fueron mayoritariamente adultos. Sin embargo, las larvas pueden también contribuir al control de áfidos pues han sido descritas como muy voraces (Ferran & Dixon, 1993; Yasuda & Ohnuma, 1999).

Un estudio reciente que describe la composición y estructura general de la red trófica de coccinélidos de Chile central indica que *E. chilensis* posee una dieta más generalista que las especies exóticas, lo que implica que sea el coccinélido del ensamble con mayor estabilidad en sus interacciones tróficas (Romero, 2021). A pesar de ello se ha demostrado que *E. chilensis* es la presa más frecuente de la depredación intragremio, en comparación a otras especies de coccinélidos (Ortíz-Martínez y col., 2019). Paralelamente Ximénez-Embun y col. (2014), a través de una metodología similar con *A. pisum* como áfido centinela, en alfalfaes de Chile central durante la primavera de 2009, registró un 42,9% de visitas de coccinélidos nativos, en comparación al 25,5% obtenido en este estudio a placas con *A. pisum*. Esta disminución de coccinélidos nativos implicaría la debilitación del servicio de control de plagas de áfidos ya que, como se mencionó anteriormente, se ha demostrado que la disminución de poblaciones de áfidos es mayor en alfalfaes donde los coccinélidos nativos son más abundantes (Grez y col., 2014b).

Relación entre las visitas de coccinélidos con la abundancia de coccinélidos y áfidos en el cultivo.

La asociación positiva y significativa entre el número de visitas de coccinélidos a las placas con áfidos centinela y la abundancia de las mismas especies de coccinélidos en el

cultivo (Fig. 4), sugiere que los registros obtenidos en las placas representarían de manera adecuada las interacciones entre coccinélidos y áfidos que están ocurriendo en el cultivo. De hecho, en trabajos previos se ha indicado que la metodología utilizada en este estudio es un método eficiente y rápido para evaluar la depredación en agroecosistemas (Boetzi y col., 2019). Por otro lado, la correlación negativa y significativa obtenida entre las visitas de coccinélidos nativos a las placas con áfidos centinela y la abundancia de áfidos en el cultivo (Fig. 5), podría indicar que cuando los coccinélidos nativos están presentes en el cultivo, el servicio de control se está ejerciendo más eficientemente.

Estudios recientes muestran que los coccinélidos nativos en alfalfa de Chile central están correlacionados con los índices de diversidad funcional de los ensamblajes de estos depredadores, no así los coccinélidos exóticos (Grez y col., 2021). Esto apoya la necesidad de conservar a los coccinélidos nativos en alfalfa, ya que es sabido que la diversidad funcional se relaciona con el buen funcionamiento del servicio de control de plagas agrícolas (Greenop y col., 2018). El mismo estudio de Grez y col. (2021) sugiere que la conservación de coccinélidos en alfalfa depende de mantener una mayor área con cobertura natural o semi-natural en el paisaje que rodea estos cultivos, desde donde posiblemente estén colonizando estos insectos.

Adicionalmente la prueba de G indicó una mayor frecuencia de visitas por parte de coccinélidos nativos respecto a sus frecuencias en el cultivo, lo cual podría deberse a que los áfidos adheridos en las placas son una presa más fácil y rápida para forrajear, dadas las condiciones en el cultivo, donde la exótica *H. variegata* es muy abundante y compiten directamente por los mismos recursos. Puede que por lo mismo *H. variegata* registrara una frecuencia de visitas menor a la frecuencia esperada (según su abundancia en el cultivo), porque posiblemente no requiera frecuentar más las placas con áfidos centinela, como los coccinélidos nativos, por algún factor que está haciendo su forrajeo más eficiente, sin embargo la causa es algo que habría que evaluar.

Otros enemigos naturales registrados.

Además de los coccinélidos, otros grupos de enemigos naturales potencialmente afidófagos fueron registrados visitando las placas con áfidos centinela, los que fueron

considerados en el análisis de las redes tróficas. Estos fueron insectos de las familias Braconidae, Formicidae, y Carabidae, y también arañas (Araneae), que estuvieron presentes en bastante menor proporción. Probablemente, su proporción podría haber sido mayor si se hubiesen considerado muestreos nocturnos, pues algunos de estos grupos forrajean principalmente de noche. También la proporción podría haber aumentado si se hubiesen puesto las placas más cerca del suelo, pues algunos grupos como carábidos y arañas forrajean más en este sustrato (Ximénez-Embun y col., 2014). A pesar de la mayor completitud en los muestreos realizados por Ximénez-Embun y col. (2014) (24h, con placas en suelo y follaje), ambos estudios coinciden en que los coccinélidos son los enemigos naturales de áfidos dominantes en alfalfas.

Considerando el total de visitas a las placas en los 15 muestreos, las hormigas (Formicidae) representaron el 6,8% del ensamble, los segundos enemigos más frecuentes después de los coccinélidos, mostrando su característico forrajeo grupal (Detrain & Deneubourg, 2008). Ellas tuvieron una mayor frecuencia de visitas en condiciones de menor abundancia de áfidos (Fig. 1 Ab en Anexo). La hormiga argentina, *Linepithema humile* Mayr, frecuentemente asociada a insectos que se alimentan de savia y que excretan mielecilla, como los áfidos (Rodríguez y col., 2005), probablemente fue la especie de hormiga registrada. A pesar de no ser un enemigo afidófago, es un insecto omnívoro y se registró alimentándose de los áfidos centinela y dejando en varias oportunidades las placas vacías.

La presencia de parasitoides (Hymenoptera: Braconidae), como tercer grupo más frecuente, está bien documentada en sistemas agrícolas, donde estos microhimenópteros han demostrado contribuir fuertemente al control de las poblaciones de áfidos. Estas microavispa colocan un huevo en el interior del áfido, del que eclosiona una larva que se alimenta del hospedero provocándole la muerte (Starý, y col., 1993; Daza-Bustamante y col., 2003). En Chile hay tres especies asociadas a pulgones en cultivos de alfalfa: *Aphidius ervi* Haliday, *Aphidius smithi* Sharma & Subba Rao y *Praon volucre* (Haliday) (Cisternas, 1994; INIA, 2016). A diferencia de las hormigas, los parasitoides mostraron una mayor frecuencia de visita a las placas en condiciones de mayor abundancia de áfidos

en el cultivo (Fig. 1Aa en Anexo), lo cual podría deberse a la mayor disponibilidad de hospederos.

Las visitas de sírfidos adultos, que son polinizadores, fueron registradas para evidenciar la presencia de este grupo en el agroecosistema ya que sus larvas son afidófagas (Rodríguez-Gasol y col., 2020). La ausencia de registros de sírfidos en estadio larval se debe posiblemente a que ellos forrajean activamente sólo durante la noche (Ximénez-Embun y col., 2014).

Los arácnidos registrados pertenecen al orden Araneae, de familias que son reconocidas como enemigos naturales de áfidos en cultivos agrícolas (Maloney y col., 2003), cazando activamente a sus presas sin tejer redes, por lo que no es inusual que se encuentren forrajeando en el estrato del follaje del cultivo. La presencia de individuos de la familia Thomisidae en cultivos de alfalfa ya está registrada en otros estudios (Armendano & González, 2010). Se ha evidenciado que individuos del género *Misumenops* se alimentan de áfidos en alfalfa contribuyendo al control de sus poblaciones aunque, a diferencia de los coccinélidos, han mostrado una mayor preferencia por otros insectos fitófagos que por áfidos (Armendano & González, 2011).

La menor proporción de registros de carábidos en este estudio se debe probablemente a que estos insectos forrajean principalmente a nivel de suelo, y los áfidos centinela en este estudio estaban a nivel de follaje. Este hábito permite una segregación espacial entre carábidos y coccinélidos en estos cultivos, donde los primeros suelen forrajear principalmente a nivel de suelo y los coccinélidos a nivel de follaje (Losey & Denno, 1998a, 1999). Esta complementariedad en el uso de los recursos (i.e., en el consumo de áfidos), reflejada en esta segregación espacial dentro del agroecosistema tiene efectos positivos en términos de control de plagas agrícolas (Grez y col., 2007; Ximénez-Embun, y col., 2014).

Redes tróficas.

Las redes tróficas muestran que *H. variegata* destaca al ser la especie dominante en ambas condiciones de abundancia de presas (Fig. 1A en Anexo) aunque en condiciones de menor abundancia aumentó su frecuencia de visita casi cuatro veces. Las especies nativas *E.*

chilensis y *E. eschscholtzii*, por otro lado, mostraron también un aumento en su participación en condiciones de menor abundancia de áfidos, sin embargo a diferencia de *H. variegata*, en condiciones de mayor abundancia se registraron con una mínima participación (Fig. 1Aa en Anexo). Es posible que la disminución de *H. axyridis* en condiciones de menor abundancia de presas podría ser un factor que está permitiendo este aumento de visitas de especies nativas. Sin embargo, otra explicación posible es que las especies nativas, como *E. chilensis*, sean más tardías en la temporada debido a sus requerimientos térmicos (Barahona-Segovia y col., 2016).

La prueba de Wilcoxon que comparó los índices cuantitativos de las redes en condiciones de mayor y menor abundancia de áfidos indicó que no existen diferencias significativas en los patrones de las redes entre ambas condiciones de abundancia durante primavera (Tabla 4), pese a la variación en la frecuencia de visitas registrada por las especies afidófagas. Considerando que la estabilidad de una comunidad ecológica está relacionada a la cantidad y a la intensidad de las interacciones presentes, la presencia de muchas interacciones débiles y pocas fuertes suele promover una resistencia a perturbaciones externas (McCann y col., 1998; Tylianakis y col., 2010). Esto apoyaría la idea de que la comunidad estudiada sería estable, por presentar pocas interacciones fuertes (e.g. las de *H. variegata*) y muchas débiles (e.g., las de los otros depredadores y parasitoides). No obstante, es importante recordar que estas redes fueron construidas en función de dos presas, y los coccinélidos a pesar de ser muy afidófagos son depredadores generalistas. Es necesario avanzar en el entendimiento del rol de los diversos componentes que forman parte del gremio de consumidores de áfidos, en la depredación de estos insectos plagas y en la estabilidad de la red trófica.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio dan cuenta del estado actual que presenta el ensamble de depredadores de áfidos en alfalfa en primavera en Chile central. En su mayoría están compuestos por coccinélidos exóticos, principalmente por *H. variegata*. La baja representación que mostraron las especies nativas *E. chilensis* y *E. eschscholtzii*

(26,8% del ensamble) es preocupante si se quiere conservar el servicio de control de plagas que llevan a cabo en estos sistemas agrícolas. Su mayor participación en condiciones de menor abundancia de áfidos en los alfalfaes da cuenta de la habilidad de estas especies nativas para mantenerse en condiciones donde su principal presa es escasa. Ello es considerado una buena condición para controlar plagas cuando estas aún se encuentran en menores densidades. Sin embargo, la actual especie dominante, *H. variegata*, mantiene una alta frecuencia de interacciones presa-enemigo natural, en condiciones de mayor y menor abundancia de áfidos, lo que desfavorecería a las especies de coccinélidos nativos al competir por recursos similares. Estos resultados contrastan fuertemente con el conocimiento de que hace 20 años atrás las especies nativas dominaban el ensamble de coccinélidos afidófagos y pone de relieve la idea de tomar medidas que permitan favorecer mecanismos para incrementar los niveles de depredadores naturales, al menos en estos cultivos, por sobre el uso de insecticidas químicos generalistas.

Referencias

Armendano, A. & González, A. (2010). Spider community (Arachnida, Araneae) of alfalfa crops (*Medicago sativa*) in Buenos Aires, Argentina. *Revista de Biología Tropical*. 58 (2):757-767.

Armendano, A. & González, A. (2011). Effect of spiders (Arachnida: Araneae) as predators of insect pest in alfalfa crops (*Medicago sativa*) (Fabaceae) in Argentina. *Revista de Biología Tropical*. 59(4):1651-1662.

Barahona-Segovia, R.M., Grez, A.A. & Bozinovic, F. (2015). Testing the hypothesis of greater eurythermality in invasive than in native ladybird species: from physiological performance to life-history strategies. *Ecological Entomology*, 41(2):182–191.

Bersier, L.F., Banasek-Richter, C. & Cattin, M.F. (2002) Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology* 83:2394–2407.

Bianchi, F.J.J., Booij, C.J., & Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595):1715–1727.

- Birkhofer, K.,** Bylund, H., Dalin, P., Ferlian, O., Gagic, V., Hambäck, P.A., ... Jonsson, M. (2017). Methods to identify the prey of invertebrate predators in terrestrial field studies. *Ecology and Evolution*, 7(6):1942–1953.
- Boetzi, F.A.,** Konle, A., & Krauss, J. (2019). Aphid cards – Useful model for assessing predation rates or bias prone nonsense? *Journal of Applied Entomology*, 144(1–2):74–80.
- Borror, D.J.,** Triplehorn, C.A. & Johnson N.F. (1989). *An introduction to the Study of Insects*. Saunders College Pub. 6th Edition. ISBN-10: 0030253977.
- Cardinale, B.J.,** Harvey C.T., Gross, K., & Ives, A. (2003). Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecology Letters*, 6(9):857–865.
- Cisternas, E.** (1994). *Plagas de la alfalfa en la décima región y su control*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura (INIA), Chile. <<http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR16753.pdf>> [Consulta: Octubre 2020].
- Daza-Bustamante, P.,** Fuentes-Contreras, E. & Niemeyer, H.M. (2003). Acceptance and suitability of *Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae* as hosts of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *European Journal of Entomology*, 100:49–53.
- Detrain, C. &** Deneubourg, J.L. (2008). Collective decision-making and foraging patterns in ants and honeybees. *Advances in Insect Physiology*, 5:123–173.
- Dormann, C.F.,** Fruend, J. & Gruber, B. (2020). Package “Bipartite”, Visualising bipartite networks and calculating some (ecological) indices. Version 2.15.
- Dunne, J.A.,** Williams, R.J. & Martinez, N.D. (2004). Networks structure and robustness of marine food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 273:291-302.
- Ferran, A. &** Dixon, A.F.G. (1993). Foraging behaviour of ladybird larvae (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, 90(4):383-402.
- Eigenbrod, F.,** Bell, V.A., Davies, H.N., Heinemeyer, A., Armsworth, P.R., & Gaston, K.J. (2011). The impact of projected increases in urbanization on ecosystem services. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1722):3201–3208.
- González, G.** (2020). Lista actualizada de especies de Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile. (http://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/PDFs/Lista_Coccinellidae_de_Chile_08_03_2020.pdf) [Consulta: Febrero 2020].

- Greenop**, A., Woodcock, B.A., Wilby, A., Cook, S.M., & Pywell, R.F. (2018). Functional diversity positively affects prey suppression by invertebrate predators: a meta-analysis. *Ecology*, 99(8):1771–1782.
- Gre**z, A., Rivera, P., & Zaviezo, T. (2007). Foliar and ground-foraging predators of aphids associated with alfalfa crops in Chile: Are they good or bad partners? *Biocontrol Science and Technology*, 17(10):1071–1077.
- Gre**z, A., Torres, C., Zaviezo, T., Lavandero, B. & Ramírez, M. (2010). Migration of coccinellids to alfalfa fields with varying adjacent vegetation in Central Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*, 37(2):111-121.
- Gre**z, A., Viera, B., & Soares, A. (2011). 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(1):36–44.
- Gre**z, A., Rand, T.A., Zaviezo, T., & Castillo-Serey, F. (2013). Land use intensification differentially benefits alien over native predators in agricultural landscape mosaics. *Diversity and Distributions*, 19(7):749–759.
- Gre**z, A., Zaviezo, T., Hernández, J., Rodríguez-San Pedro, A., & Acuña, P. (2014a). The heterogeneity and composition of agricultural landscapes influence native and exotic coccinellids in alfalfa fields. *Agricultural and Forest Entomology*, 16(4):382–390.
- Gre**z, A.A., Zaviezo, T., & Gardiner, M.M. (2014b). Local predator composition and landscape affects biological control of aphids in alfalfa fields. *Biological Control*, 76:1 – 9.
- Gre**z, A, Zaviezo, T., Roy, H.E., Brown, P.M.J., & Bizama, G. (2016) Rapid spread of *Harmonia axyridis* in Chile and its effects on ladybeetle biodiversity. *Diversity and Distributions*, 22:982– 994.
- Gre**z, A., Zaviezo, T., González, C., Soares, A. O., & Poch, T. (2017). 5.1 Native coccinellids and biological control: a positive partnership that can be threatened by the invasion of an alien species. In *Symposium on Biological Control of Arthropods* (pp. 76).
- Gre**z, A., Zaviezo, T., Casanoves, F., Oberti, R. & Pliscoff, P. (2021). The positive association between natural vegetation, native coccinellids and functional diversity of aphidophagous coccinellid communities in alfalfa. *Insect Conservation and Diversity*. DOI: 10.1111/icad.12473.
- Grieshop**, M.J., Werling, B., Buehrer, K., Perrone, J., Isaacs, R., & Landis, D. (2012). Big brother is watching: studying insect predation in the age of digital surveillance. *American Entomologist*, 58(3):172–182.
- INIA**. (2016). Pulgones. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura, Chile. (<https://www.inia.cl/sanidadvegetal/2016/11/07/pulgones/>). [Consulta: Septiembre 2020].

- Kundoo, A. & Khan, A. (2017).** Coccinellids as biological control agents of soft bodied insects: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 5(5):1362-1373.
- Losey, J.E. & Denno, R.F. (1998a).** The escape response of pea aphids to foliar-foraging predators: factors affecting dropping behaviour. *Ecological Entomology*, 23:53–61.
- Losey, J.E. & Denno, R.F. (1998b).** Positive predator-predator interactions: Enhanced predation rates and synergistic suppression of aphid populations. *Ecology*, 79(6):2143–2152.
- Losey, J.E. & Denno, R.F. (1999).** Factors facilitating synergistic predation: the central role of synchrony. *Ecological Applications*, 9(2):378–386.
- Lövei, G.L. & Ferrante, M. (2017).** A review of the sentinel prey method as a way of quantifying invertebrate predation under field conditions. *Insect Science*, 24(4):528–542.
- Maloney, D., Drummond, F.A., & Alford, R. (2003).** Spider Predation in Agroecosystems: Can Spiders Effectively Control Pest Populations?. MAFES Technical Bulletin 190. Department of Biological Sciences The University of Maine, Orono. ISSN 1070-1524.
- McCann, K., Hastings, A., & Huxel, G. (1998).** Weak trophic interactions and the balance of nature. *Nature*, 395:794–798.
- McGavin, G.C. (2005)** Insectos, arañas y otros artrópodos terrestres. Barcelona, España. Ediciones Omega, S.A. Traducido por Manuel Pijoan. ISBN; 84-282-1201-5.
- Meyhöfer, R. (2001).** Intraguild predation by aphidophagous predators on parasitised aphids: the use of multiple video cameras. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 100(1):77–87.
- Michaud, J.P (2012).** Coccinellids in Biological Control. *In: Hodek, I.; Van Emden, H. F.; Honěk, A (eds.). Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae) (pp. 488–519).* Wiley- Blackwell, EE.UU.
- Morris, R.J. (2010).** Anthropogenic impacts on tropical forest biodiversity: a network structure and ecosystem functioning perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1558):3709–3718.
- Oberti, R. (2020).** Dinámica temporal de Coccinélidos afidófagos y su relación con la disponibilidad de presas y temperatura ambiental en alfalfa de la región Metropolitana de Chile. Memoria de Título, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

- Ortiz-Martínez, S., Staudacher, K., Baumgartner, V., Traugott, M., & Lavandero, B.** (2019). Intraguild predation is independent of landscape context and does not affect the temporal dynamics of aphids in cereal fields. *Journal of Pest Science*, 93:235–249.
- Pascual, M., & Dunne, J.A.** (eds) (2006). *Ecological networks: linking structure to dynamics*. New York, EE.UU. Oxford University Press, 119–135.
- Paredes, D., Campos, M., & Cayuela, L.** (2013). El control biológico de plagas de artrópodos por conservación: técnicas y estado del arte. *Ecosistemas*, 22:58–63.
- Peña, L.E.** (2006) *Introducción al estudio de los insectos de Chile*. Séptima Edición. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. ISBN: 956–111864–5.
- Power, A.G.** (2010). Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. (365) 2959–2971.
- Rodríguez, F., Ripa, R., Larral, P., & INIA** (2005). Hormiga argentina afecta el control biológico de plagas. *Tierra Adentro: Especial Control Biológico*. pp. 24–25.
- Rodríguez-Gasol, N., Alins, G., Veronesi, E., & Wratten, S.** (2020). The ecology of predatory hoverflies as ecosystem-service providers in agricultural systems. *Biological Control*, Vol. 151. 104405.
- Rojas, S.** (2005). *Control biológico de plagas en Chile: historia y avances*, colección libros INIA N° 12. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile.
- Romero, V.** (2021). *Variación de las redes tróficas de coccinélidos afidófagos en función de la disponibilidad de presas, una evaluación a partir de análisis molecular de contenido estomacal*. Tesis Magister en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Rondoni, G., Borges, I., Collatz, J., Conti, E., Costamagna, A., Dumont, F., ... Cock, M. J.W.** (2020). Exotic ladybirds for biological control of herbivorous insects – a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 169(1):6–27.
- Roy, H.E., y col. ... Estoup, A.** (2016). The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. *Biological Invasions*, 18(4):997–1044.
- Sint, D. & Traugott, M.** (2015). Food Web Designer: a flexible tool to visualize interaction networks. *Journal of Pest Science*, 89(1):1–5.
- Snyder, W.E., Chang, G.C., & Prasad, R.P.** (2005). Conservation biological control. Biodiversity influences the effectiveness of predators. *In: Barbosa, P., Castellanos, I.* (eds.), *Ecology of Predator–Prey Interactions* (pp. 324–343). NY Oxford University Press, New York.



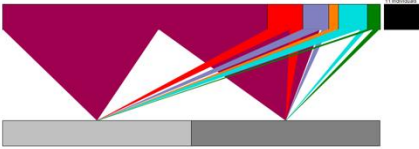

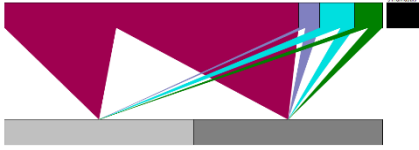
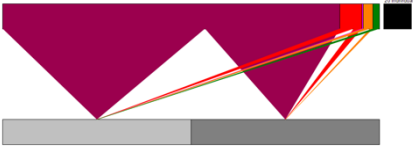
- Snyder, W.E. & Evans, E.W.** (2006) Ecological effects of invasive arthropod generalist predators. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 37:95–122.
- Snyder, W.E., Snyder, G.B., Finke, D.L., & Straub, C.S.** (2006). Predator biodiversity strengthens herbivore suppression. *Ecology Letters*, 9(7):789–796.
- Solervicens, J.** (2014), Coleópteros de la Reserva Nacional Río Clarillo, en Chile central; taxonomía, biología y biogeografía. Santiago, Chile. CONAF: Corporación Nacional Forestal, Gerencia de Áreas Silvestres Protegidas. ISBN: 978–956–7669–50–9.
- Starý, P., Gerding, I.M., Norambuena, I.H., & Remaudière, G.** (1993). Environmental research on aphid parasitoid biocontrol agents in Chile (Hym., Aphidiidae; Hom., Aphidoidea). *Journal of Applied Entomology*, 115(1–5):292–306.
- Straub, C.S., & Snyder, W.E.** (2008). Increasing enemy biodiversity strengthens herbivore suppression on two plant species. *Ecology*, 89(6):1605–1615.
- Straub, C.S., Finke, D.L., & Snyder, W.E.** (2008). Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control*, 45(2):225–237.
- Tapia, D.H., Morales, F., & Grez, A.A.** (2010). Olfactory cues mediating prey-searching behaviour in interacting aphidophagous predators: are semiochemicals key factors in predator-facilitation? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137(1):28–35.
- Thieltges, D.W., Amundsen, P.-A., Hechinger, R.F., Johnson, P.T.J., Lafferty, K.D., Mouritsen, K.N., ... Poulin, R.** (2013). Parasites as prey in aquatic food webs: implications for predator infection and parasite transmission. *Oikos*, 122, 1473–1482.
- Tylianakis, J.M., Laliberté, E., Nielsen, A., & Bascompte, J.** (2010). Conservation of species interaction networks. *Biological Conservation*, 143(10):2270–2279.
- Tilman, D.** (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292(5515):281–284.
- Williams, R.J., & Martinez, N.D.** (2000). Simple rules yield complex food webs. *Nature*, 404(6774):180–183.
- Ximenez-Embun, M.G., Zaviezo, T., & Grez, A.** (2014). Seasonal, spatial and diel partitioning of *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) predators and predation in alfalfa fields. *Biological Control*, 69:1–7.
- Yasuda, H., & Ohnuma, N.** (1999). Effect of cannibalism and predation on the larval performance of two ladybird beetles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93(1):63–67.

Zaviezo, T., Soares, A. & Grez, A. (2019). Interspecific exploitative competition between *Harmonia axyridis* and other coccinellids is stronger than intraspecific competition. *Biological Control*, 131:62–68.

Anexos

Tabla 1A. Variables cuantitativas ponderadas calculadas a través del paquete “*Visualising bipartite networks and calculating some (ecological) indices*” (Dormann y col., 2020) para cada fecha de muestreo (n=15), detallando su condición de mayor/menor abundancia de áfidos.

Alfalfaes	Abundancia	Nº de especies de enemigos	Diversidad de enemigos (Shannon)	Densidad de links	Conectancia	Generalidad	Vulnerabilidad
14B	Mayor	5	0,54	1,67	0,24	1,73	1,61
19A	Mayor	6	0,53	2,34	0,29	1,70	2,99
18A	Mayor	4	0,67	2,08	0,35	1,96	2,21
11A	Mayor	2	0,58	1,72	0,43	1,79	1,65
8A	Mayor	2	0,48	1,73	0,43	1,62	1,84
2A	Mayor	6	0,60	2,50	0,31	1,84	3,17
12A	Menor	6	0,60	2,02	0,25	1,86	2,18
13A	Menor	5	0,63	2,95	0,42	1,88	4,02
14A	Menor	5	0,46	2,99	0,43	1,62	4,36
2B	Menor	5	0,63	2,07	0,30	1,88	2,27
8B	Menor	7	0,55	2,55	0,28	1,73	3,38
10B	Menor	7	0,64	2,00	0,22	1,90	2,10
11B	Menor	8	0,57	3,43	0,34	1,82	5,04
12B	Menor	6	0,65	2,73	0,34	1,92	3,53
18B	Menor	5	1,54	1,69	0,24	1,85	1,54

Alfalfal	Red bipartita	Escala (barra negra)	Abundancia áfidos	Fecha
11A		2 individuos	1413	30/ago/19
2A		13 individuos	2066	03/sept/19
19A		11 individuos	824	04/sept/19
8A		3 individuos	1159	06/sept/19
18A		5 individuos	681	11/sept/19
14B		20 individuos	1691	15/oct/19

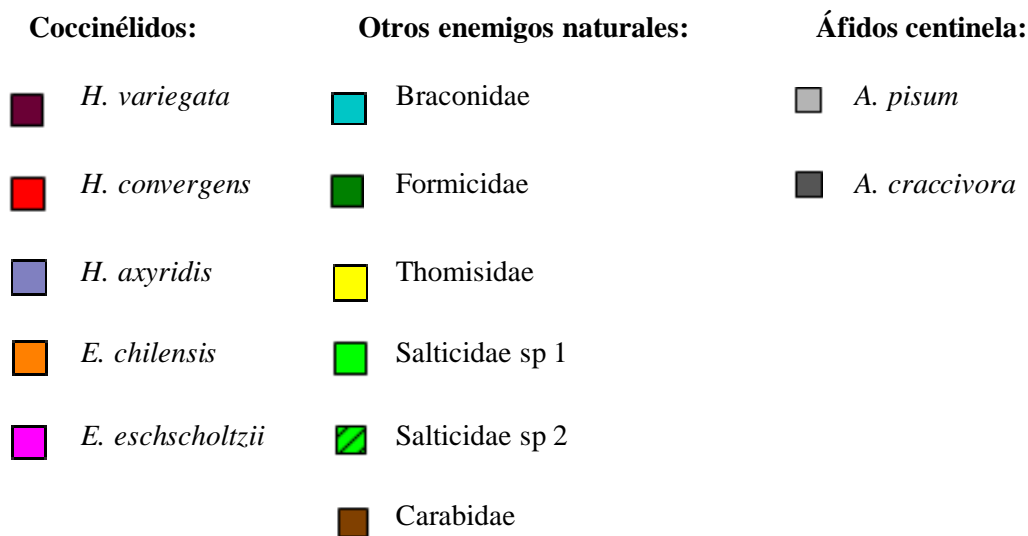





Figura 1Aa. Redes bipartitas de interacciones presa-enemigo natural de áfidos en follaje de alfalfa durante el horario de mayor actividad de coccinélidos para los 6 muestreos que mostraron una **mayor abundancia de áfidos** (>650 áfidos) en el cultivo entre 30 de agosto y 30 de octubre de 2019. La barra superior representa las especies de enemigos naturales registrados visitando las placas con áfidos centinela, y la barra inferior representa las dos especies de áfidos centinela utilizados para realizar el experimento. La escala se representa con el grosor de las barras color negro a la derecha de cada red.

Alfalfal	Red bipartita	Escala (barra negra)	Abundancia áfidos	Fecha
14A		2 individuos	350	05/sept/19
13A		7 individuos	49	10/sept/19
12A		6 individuos	47	12/sept/19
10B		80 individuos	0	04/oct/19
2B		100 individuos	0	08/oct/19
12B		15 individuos	0	10/oct/19
11B		10 individuos	0	17/oct/19
8B		30 individuos	1	18/oct/19
18B		10 individuos	3	30/oct/19

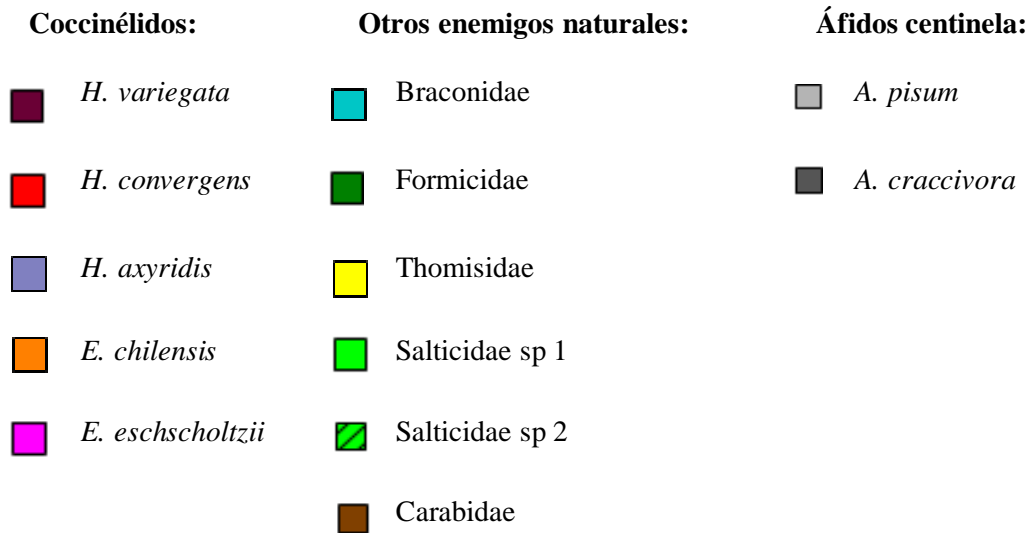


Figura 1Ab. Redes bipartitas de interacciones presa-enemigo natural de áfidos en follaje de alfalfa durante el horario de mayor actividad de coccinélidos para los 9 muestreos que mostraron una **menor abundancia de áfidos** (<360 áfidos) en el cultivo entre 30 de agosto y 30 de octubre de 2019. La barra superior representa las especies de enemigos naturales registrados visitando las placas con áfidos centinela, y la barra inferior representa las dos especies de áfidos centinela utilizados para realizar el experimento. La escala se representa con el grosor de las barras color negro a la derecha de cada red.