



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**ASOCIACIÓN ENTRE LA DIVERSIDAD TAXONÓMICA Y FUNCIONAL DE
COCCINÉLIDOS Y LA DEPREDACIÓN DE ÁFIDOS EN ALFALFA**

MARLENE ESPERANZA MARCHANDON MORALES

Memoria para optar al Título Profesional de
Médico Veterinaria
Departamento de Cs. Biológicas

PROFESORA GUÍA: AUDREY GREZ
UNIVERSIDAD DE CHILE

PROYECTO FONDECYT 1180533

SANTIAGO, CHILE
AÑO 2022



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**ASOCIACIÓN ENTRE LA DIVERSIDAD TAXONÓMICA Y FUNCIONAL DE
COCCINÉLIDOS Y LA DEPREDACIÓN DE ÁFIDOS EN ALFALFA**

MARLENE ESPERANZA MARCHANDON MORALES

Memoria para optar al Título Profesional de
Médico Veterinaria
Departamento de Cs. Biológicas

Nota final

Prof. Guía	Audrey Grez
Profesor Corrector	André Rubio
Profesor Corrector	Tomislav Curkovic

PROYECTO FONDECYT 1180533

SANTIAGO, CHILE
AÑO 2022

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, papá, hermanos y tíos, mi familia quien estuvo conmigo de principio a fin durante todo este viaje. Fue más largo y difícil de lo esperado, pero me siento muy feliz de haberlo vivido junto a ellos.

Gracias a la profesora Audrey por su paciencia y comprensión durante las incontables veces que estuve a punto de rendirme o cuando necesitaba priorizar otros temas, siempre estuvo ahí para apoyarme y entender mi situación. Muchas gracias por su guía clara, y todo el conocimiento y experiencia entregada.

Al LEAF, donde me recibieron desde el día 1 con los brazos abiertos y mucha comida, a la Eli, Romi, Gabi, Karla, Violeta, Jorge, Paz y Fer; les agradezco infinitamente porque cada vez que iba con un problema ofrecían sin dudarle una mano de ayuda o un comentario de aliento.

A mis amigas de la vida, el grupo de media, quienes siempre me apoyaron en los momentos que no encontraba ánimos, Belen, Caro, Dani, Fally y Moka, les estoy eternamente agradecida por estar en mi vida.

A mi amigo Joaco, que fue un apoyo base en el momento exacto, sin ti, no quedaría cordura luego de tanto estrés. Gracias por las llamadas, las horas de distracción y el ánimo ofrecido.

Al FONDECYT 1180533 quien financió esta memoria de título.

Finalmente agradezco a todas las personas que se hicieron presente con una palabra de aliento durante este proyecto.

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
MATERIALES Y MÉTODOS	5
Experimento de exclusión para estimar el servicio de control biológico (Objetivo 1)	6
Caracterización de la diversidad taxonómica y funcional de coccinélidos (Objetivos 2 y 3).....	8
RESULTADOS	9
Experimento de exclusión para estimar el servicio de control biológico (Objetivo 1)	9
Índice de Control Biológico (BSI)	10
Relación entre la diversidad taxonómica de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfa (Objetivo 2).	10
Relación entre la diversidad funcional de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfa (Objetivo 3)	12
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES	18
BIBLIOGRAFÍA	19

INDICE DE FIGURAS

- Fig. 1.** Distribución de los alfalfaes en los que se hizo el estudio. Imagen de Google Earth, 20 de julio de 2020. 5
- Fig. 2.** Distribución en el campo de los tratamientos de exclusión de enemigos naturales, dispuestos en tres parcelas separadas por 10 m entre sí. A= Abierta, sin exclusión; E= Exclusión; S= Semi-abierta, con mallas perforadas. Esto se repitió en 9 alfalfaes. 7
- Fig. 3** Box plot de distribución de áfidos (*A. pisum*) presentes en los 3 tratamientos, donde Exclusión no permite el acceso de enemigos naturales, Semi abierto permite el acceso, pero de manera controlada por el efecto malla y Abierto permite libremente el acceso a enemigos naturales. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas según Prueba de Dunn.....;Error! Marcador no definido.
- Fig. 4.** PLS entre los índices de diversidad taxonómica y el índice de control biológico (BSI) estimado a partir de los experimentos de exclusión en nueve alfalfaes de la Región Metropolitana. Cada rombo azul representa cada alfalfal y los vectores los índices de diversidad taxonómica (Chao-1, Shannon, Simpson y Equitabilidad, en amarillo) y el BSI (en verde). Los vectores más largos y con ángulos más agudos se asocian positivamente.....;Error! Marcador no definido.
- Fig. 5.** PLS entre los índices de diversidad funcional y el índice de control biológico (BSI) estimado a partir de los experimentos de exclusión en nueve alfalfaes de la Región Metropolitana. Cada rombo (azul) representa cada alfalfal y los vectores los índices de diversidad funcional de Equitabilidad (FEve), riqueza (FRic), dispersión (FDis) y divergencia (FDiv), (en amarillo) y el BSI (en verde). Los vectores más largos y con ángulos más agudos se asocian positivamente.....;Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Índice de servicio de biocontrol (BSI) por alfalfal.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 2. Abundancia de especies de coccinélidos y áfidos colectados en redes entomológicas, indicando abundancia total y por alfalfal. Las especies se presentan en orden de abundancia.	10
Tabla 3. Diversidad taxonómica de coccinélidos por alfalfal, colectados durante el 30 de agosto y el 10 de septiembre de 2019.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 4. Rasgos para calcular índices de diversidad funcional en coccinélidos. El tamaño corporal (mm) se estima desde la cabeza al final del abdomen; el CVhábitat representa cuán generalistas son las especies en función de cuánto varía su abundancia en los distintos tipos de usos de suelo, con valores mayores representando a especies más especialistas y valores menores a especies más generalistas; el uso del microhábitat representa la proporción de individuos de cada especie encontrados en la parte apical de la planta. na: dato no disponible. Rasgos tomados de González (2006), Grez et al., (2019, 2021) y Álvarez (2019).	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 5. Índices de funcionalidad multirasgos por alfalfal. FRic: Riqueza funcional, FEve: Equitabilidad funcional, FDis: Dispersión funcional, FDiv: Divergencia funcional.	14

RESUMEN

Los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) son reconocidos mundialmente por su importancia como agentes de control de plagas dañinas para la agricultura como los áfidos (Hemiptera: Aphididae). En Chile, esta familia de coleópteros ha sido estudiada por diversos autores, relevando su rol en este servicio ecosistémico. A pesar de los numerosos trabajos que hablan de su diversidad taxonómica, y unos pocos que mencionan la diversidad funcional de coccinélidos, nada se sabe sobre la asociación de estas variables con el control biológico. En alfalfa de Chile central, los coccinélidos son los principales depredadores de áfidos, con una fauna abundante y diversa especialmente en primavera, compuesta por especies nativas y exóticas. Esta investigación tuvo por objetivo estimar experimentalmente la relación entre la diversidad taxonómica y funcional de coccinélidos con la depredación del áfido *Acyrtosiphon pisum* en alfalfa de la Región Metropolitana. Mediante experimentos de exclusión de enemigos naturales, se estudió la depredación de áfidos en nueve alfalfa durante la primavera, calculándose un índice del servicio de control biológico (BSI). Además, se realizaron redadas en los días de instalación y retiro de los tratamientos para caracterizar la diversidad taxonómica y funcional de los coccinélidos. La diversidad taxonómica de los ensambles, se caracterizó a través de la riqueza de especies, la diversidad de Shannon-Winner y de Simpson, y la equitabilidad. Para caracterizar la diversidad funcional se consideraron los rasgos: tamaño corporal, especialización de hábitat y microhábitat. Se estimó la riqueza funcional, dispersión funcional, divergencia funcional, y equitabilidad funcional. Los experimentos de exclusión de enemigos naturales evidenciaron el rol de los enemigos naturales en disminuir las poblaciones de áfidos. Por otra parte, se observó una relación positiva entre el BSI y la equitabilidad de los ensambles de coccinélidos y entre el BSI y la riqueza funcional de este ensamble. Trabajos previos han mostrado que los coccinélidos nativos son los que más aportan diversidad a los ensambles. Por lo tanto, mantener coccinélidos nativos en alfalfa es necesario para asegurar una mayor diversidad taxonómica y funcional de los ensambles y un mejor servicio de control biológico, como lo demostrado en este trabajo.

ABSTRACT

Coccinellidae (Coleoptera: Coccinellidae) are known worldwide for their role as control agents of pests harmful to agriculture, such as aphids (Hemiptera: Aphididae). In Chile, this coleopteran family has been investigated by several authors, explaining how necessary they are for their role in the ecosystem service. Despite the innumerable works that describe their taxonomic diversity, and those that mention the functional diversity of coccinellids, these are still not correlated with their ecosystem service. In alfalfa fields of central Chile, coccinellids are the main predators of aphids, with an extensive and rich fauna, especially in spring, formed by native and exotic species. The objective of this research was to experimentally estimate the relationship between the taxonomic and functional diversity of coccinellids and the predation of the aphid *Acyrtosiphon pisum* in alfalfa fields of the Metropolitan Region. A biological control service index (BSI) was calculated to determine aphid predation in 9 alfalfa fields during the spring, using experiments with natural enemy exclusion. In addition, sweep samples obtained on the days of installation and removal of the treatments were collected to characterize taxonomic and functional diversity. The taxonomic diversity of the assemblages was characterized through species richness, Shannon-Winner and Simpson's diversity, and equitability. To determine functional diversity, the following traits were studied: body size, habitat specialization and microhabitat. Functional richness, functional dispersion, functional divergence, and functional equitability were estimated through the F-diversity program. Experiments with natural enemy exclusion showed the role of natural enemies in reducing aphid populations. Moreover, a positive relationship was observed between BSI and the equitability of coccinellid assemblages and between BSI and the functional richness of this assemblage. Previous work has shown that native coccinellids provide the highest diversity to the assemblages. Therefore, maintaining native coccinellids in alfalfa fields is necessary to ensure greater taxonomic and functional diversity of the assemblages and a better biological control service, as demonstrated in this work.

INTRODUCCIÓN

La intensificación agrícola, relacionada con la productividad y las prácticas de manejo de un área para aumentar su productividad o la rentabilidad, ha ayudado a satisfacer la creciente demanda mundial de alimentos, pero producto de la fragmentación y del aislamiento que conduce, se han confinado las especies silvestres en pequeños parches, con pérdidas irreversibles de especies nativas amenazando al medio ambiente y su biodiversidad (Bommarco *et al.*, 2013; Meneses-R *et al.*, 2018), y la pérdida de biodiversidad en agroecosistemas intensificados puede resultar en una pérdida de servicios ecosistémicos, como el control biológico (Landis, 2017). Componentes clave que cumplen con este rol de control biológico son los enemigos naturales de plagas. Dentro de las plagas dañinas más importantes a nivel mundial para la agricultura se encuentran los áfidos (Hemiptera: Aphididae), también llamados pulgones, mientras que sus enemigos naturales más importantes son los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) (Rusch *et al.*, 2016). En Chile se han descrito 120 especies de coccinélidos, principalmente nativas (González, 2020), las que se pueden encontrar abundantemente en cultivos como la alfalfa (*Medicago sativa* L.), donde las especies de áfidos más abundantes son *Acyrtosiphon pisum* (Harris), *Aphis craccivora* Koch y *Therioaphis trifolii* (Monell) (Grez *et al.*, 2014).

Se ha propuesto que una mayor biodiversidad de enemigos naturales usualmente conduce a un control biológico de plagas más eficiente, especialmente cuando los enemigos naturales tienen nichos de alimentación diferentes y complementarios (Snyder, 2019). Por otro lado, un ensamble con mayor riqueza puede albergar especies redundantes en su nicho y ello aseguraría que si una especie se pierde otra proveería dicha función, como lo plantea la Hipótesis del aseguramiento del servicio (“*Insurance hypothesis*”) (Yachi & Loreau, 1999). Esta hipótesis se concentra en la diversidad taxonómica de especies, es decir, el número, abundancia y composición de especies en una determinada comunidad, y se mide por la riqueza, equitabilidad y diversidad de la comunidad (Smith & Smith, 2007). Sin embargo, Gagic *et al.* (2015) indica que la diversidad funcional, entendida como el valor, rango, distribución y abundancia relativa de los caracteres funcionales de los organismos que constituyen un ecosistema (Casanoves *et al.*, 2011a), es mejor predictora del funcionamiento ecosistémico que la diversidad taxonómica.

Para avanzar en el entendimiento del rol de la diversidad funcional y taxonómica en los servicios ecosistémicos, en este trabajo se estimó experimentalmente la relación entre la diversidad taxonómica y funcional de coccinélidos con el control biológico de *A. pisum* en alfalfa de la Región Metropolitana.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El control biológico es el uso y manejo de una especie (i.e., enemigo natural) para reducir la densidad poblacional de otra especie que genera daños a algún bien de uso humano (Smith & Smith, 2007). Existen distintos tipos de control biológico como el clásico, que es la introducción intencional de una especie exótica para el control de una plaga; el aumentativo, donde los enemigos naturales son criados y liberados en grandes cantidades para obtener un control inmediato de las plagas; y el de conservación, en que se modifica el medio ambiente o las prácticas existentes para proteger y aumentar la población de enemigos naturales en el agroecosistema. Este último se diferencia del clásico y el aumentativo en que los enemigos naturales no son liberados, sino que la población residente es conservada y mejorada (Hajek & Eilenberg, 2018).

Para estudiar el control biológico se han utilizado enfoques teóricos, experimentales y observacionales (Straub *et al.*, 2008). Las pruebas de laboratorio pueden mostrar si un enemigo natural es exitoso o no; sin embargo, su estudio en el campo entrega información más fidedigna respecto a su eficiencia y establecimiento. Otro método usado para cuantificar el papel de enemigos naturales, principalmente de entomófagos, es a través del análisis serológico de su contenido estomacal (Badii *et al.*, 2004), pero uno de los más usados es la exclusión de enemigos naturales para ver su efecto sobre el crecimiento poblacional de las presas (Gardiner *et al.*, 2009, Grez *et al.*, 2014). Este método consiste en la exclusión, a través de cajas con mallas, de enemigos naturales de un determinado número de parcelas o unidades experimentales (e.g., plantas), las cuales se comparan con otra serie de parcelas en donde los enemigos naturales no han sido excluidos (control). Además, muchas veces se incluye un tercer tratamiento para controlar el efecto de la malla, consistente en cajas similares en diseño, pero con aberturas para facilitar la entrada o salida de los enemigos naturales, pero manteniendo el efecto que pueda tener la malla en las presas, como cambios microclimáticos en las unidades experimentales. Si no hay un efecto de la malla, entonces este tratamiento debería comportarse como el control (Bannerman *et al.*, 2018; Gardiner *et al.*, 2009; Grez *et al.*, 2014).

Los enemigos naturales suprimen las poblaciones herbívoras, ya sea directamente a través de la depredación o afectan el rendimiento herbívoro indirectamente alterando su comportamiento (Pappas *et al.*, 2016). Existen distintos tipos de enemigos naturales, entre ellos depredadores, parasitoides y patógenos que juegan un rol ecológico importante en el control biológico de insectos dañinos a la agricultura (Yong, 2010; Redhead *et al.*, 2020). Trabajos experimentales y meta-análisis han demostrado que una mayor diversidad en la composición de enemigos naturales usualmente conduce a un control

biológico de plagas más eficiente, especialmente cuando las especies de enemigos naturales tienen nichos de alimentación diferentes y complementarios (Snyder, 2019). Comunidades biodiversas pueden reunir especies de enemigos naturales que atacan plagas usando diferentes estrategias, en diferentes momentos, o en diferentes lugares, actuando complementariamente y maximizando la mortalidad y supresión de sus presas (Snyder, 2019). Por otra parte, la Hipótesis del aseguramiento del servicio (“*Insurance hypothesis*”) (Yachi & Loreau, 1999) indica que una mayor biodiversidad asegura el funcionamiento de los ecosistemas pues al existir mayor riqueza de especies hay mayores garantías de que algunas mantendrán su funcionamiento incluso si otras faltan. Estas hipótesis se concentran en la diversidad taxonómica de especies, la que se refiere al número, abundancia y composición de especies en una determinada comunidad y se mide por la riqueza, equitabilidad y diversidad de especies (Smith & Smith, 2007). Sin embargo, más recientemente, se ha evidenciado que la diversidad funcional de los enemigos naturales de plagas puede también explicar el servicio de control biológico (Gagic *et al.*, 2015). La diversidad funcional se refiere a la variabilidad de caracteres fenotípicos o conductuales de las especies que componen una comunidad relacionados con una función determinada y se mide por la riqueza funcional, equitabilidad funcional u otros índices que incluyen múltiples rasgos (Casanoves *et al.*, 2011a). Si bien la diversidad funcional es un componente importante de la biodiversidad, sus implicancias sobre el control de plagas siguen siendo poco conocidas (Greenop *et al.*, 2018). Hoy, la literatura propone que en lugar de centrarse sólo en la identidad taxonómica de los organismos se debería estudiar la diversidad de rasgos funcionales de las especies dentro de una comunidad (Gagic *et al.*, 2015). Así, se avanzará hacia una mejor comprensión del rol de la diversidad de los enemigos naturales de plagas en el control biológico (Alhadidi *et al.*, 2019). Esto es relevante puesto que, en los últimos años, la intensificación agrícola, pérdida de cobertura natural y homogeneización de los paisajes han resultado en una disminución de la biodiversidad, y de la abundancia de los enemigos naturales de plagas en los cultivos, de su diversidad taxonómica y funcional, lo que posiblemente afecte negativamente el control de plagas (Fahrig *et al.*, 2011; Lichtenberg *et al.*, 2017; Liere *et al.*, 2017; Redhead *et al.*, 2020).

Entre los enemigos naturales frecuentemente usados en el manejo de plagas, los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) son una familia muy diversa y abundante, con más de 6000 especies a nivel mundial (Snyder, 2009; González, 2020). Si bien gran parte de los coccinélidos se alimenta de áfidos, también pueden consumir otros organismos como ácaros, otros insectos de cuerpo blando y huevos de insectos (Kundoo & Khan, 2017). Sin embargo, no todas las especies son carnívoras estrictas, pudiendo consumir polen, hongos y unos pocos consumen plantas (Sarwar, 2016). En Chile se han descrito 120

especies, 87% de ellas nativas (González, 2020), habiéndose introducido varias especies, de las cuales siete se han establecido exitosamente (Rondoni *et al.*, 2021). Una especie, *Harmonia axyridis* (Pallas), invadió el país, aumentando su distribución en los últimos años (Grez *et al.*, 2010; Grez *et al.*, 2016)

Los coccinélidos son especialmente abundantes en alfalfa, una leguminosa forrajera perenne que se cultiva ampliamente para forraje animal en la zona centro-sur del país. Las principales plagas de este cultivo son los áfidos, los que pueden provocar lesiones por alimentación directa o al ser vectores de patógenos vegetales. Ellos tienen una alta capacidad reproductiva y pueden doblar sus poblaciones en solo 3 días (Karley *et al.*, 2004). En alfalfa en Chile central, los áfidos más abundantes son el pulgón de la arveja (*A. pisum*), el pulgón negro de la alfalfa (*A. craccivora*) y el pulgón manchado del trébol (*T. trifolii*), y sus abundancias poblacionales puede ser disminuidas a partir del control biológico realizado principalmente por coccinélidos (Grez *et al.*, 2014). De hecho, evidencia experimental indica que i) el 50% de los enemigos naturales que visitan *A. pisum* en alfalfa son coccinélidos, ii) su mayor actividad depredadora se concentra en primavera, en el follaje y durante el día, y iii) el control biológico aumenta en alfalfa donde la abundancia de coccinélidos nativos incrementa (Grez *et al.*, 2014; Ximénez-Embun *et al.*, 2014). Sin embargo, con la llegada de *H. axyridis* al país, la abundancia y riqueza de los coccinélidos nativos en alfalfa disminuyó (Grez *et al.*, 2010; Grez *et al.*, 2021; Grez *et al.*, 2016). Si bien en los últimos años *H. axyridis* ha disminuido en las alfalfa, otra especie exótica, *Hippodamia variegata* (Goeze) se hizo muy dominante y ello es preocupante pues un trabajo reciente mostró que los coccinélidos nativos son los que más aportan a la diversidad taxonómica y funcional de este ensamblaje en alfalfa, y su pérdida podría resultar en una disminución del control de plagas (Grez *et al.*, 2021). Sin embargo, se desconoce la relación que existe entre la diversidad taxonómica y funcional de estos depredadores con el servicio de control biológico de estos áfidos.

OBJETIVO GENERAL

Estimar la relación entre la diversidad taxonómica y funcional de coccinélidos con la depredación de áfidos en primavera, en alfalfaes de la Región Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Estimar, experimentalmente, el servicio de control biológico de áfidos en alfalfaes.
- 2.- Evaluar la relación entre la diversidad taxonómica de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfaes.
- 3.- Evaluar la relación entre la diversidad funcional de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfaes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó el año 2019 en nueve alfalfaes ubicados en Pirque y Calera de Tango, al sur de la Región Metropolitana (Fig. 1). Los alfalfaes tenían un área aproximada de 5 ha, con manejos similares sin la aplicación de insecticidas y fueron muestreados en la primavera, que es la época de mayor abundancia de áfidos y coccinélidos en este cultivo (Ximénez-Embun *et al.*, 2014, Oberti 2020).

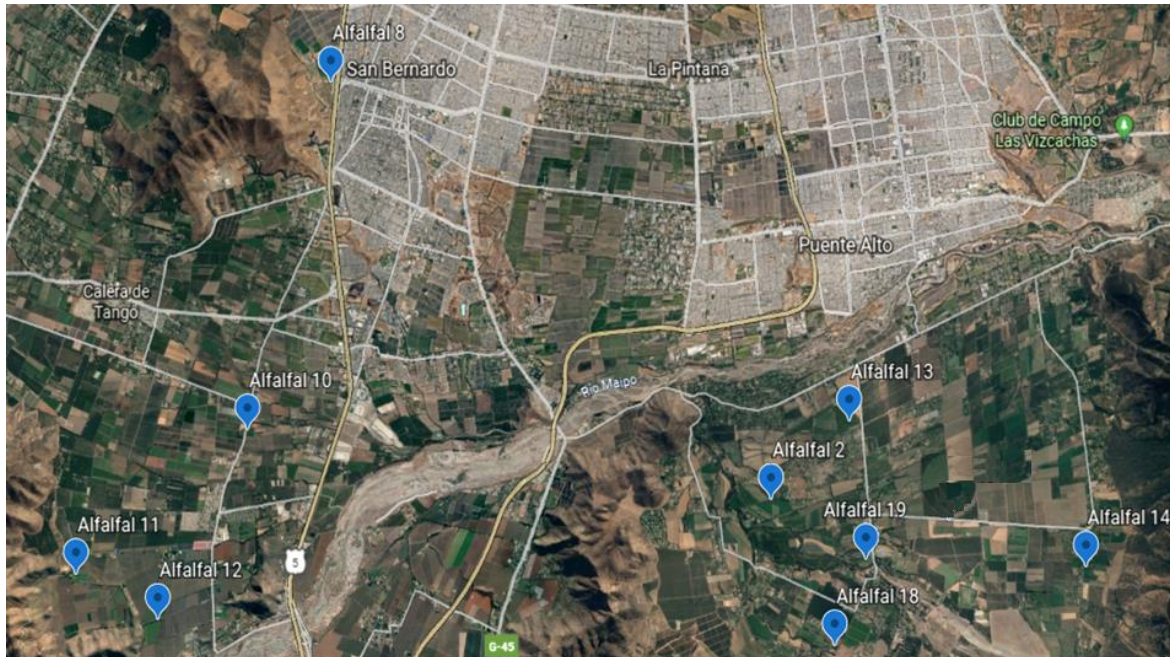


Fig. 1. Distribución de los alfalfaes en los que se hizo el estudio. Imagen de Google Earth, 20 de julio de 2020.

Experimento de exclusión para estimar el servicio de control biológico (Objetivo 1)

Se utilizó la metodología usada por Gardiner *et al.* (2009), Grez *et al.* (2014) y Bannerman *et al.* (2018). En el centro de cada uno de los nueve alfalfaes, se establecieron tres parcelas, separadas entre ellas por 10 m. Cada parcela consistió en tres subparcelas separadas por 1 m. En cada subparcela se aisló una planta de alfalfa, retirando en 1 m² toda la vegetación circundante. La planta se podó de manera de dejarla de 25 cm de alto por 10 de ancho. A cada planta de cada parcela se asignó de manera semi-aleatoria, sin que se repita el orden entre parcelas, uno de los siguientes tratamientos: (1) Jaula de exclusión, (2) Jaula semi-abierta, (3) Planta abierta (Fig. 2). La jaula de exclusión disminuye la probabilidad de que los depredadores ingresen a la planta y consistió en un marco cilíndrico de fierro de 40 cm de diámetro x 70 cm de alto, cubierto con una fina malla blanca (con aberturas de 1 mm) atada en la punta y enterrada al suelo. Además, para prevenir el acceso de carábidos y otros depredadores terrestres, la planta excluida se rodeó con un anillo de metal de 30 cm de diámetro enterrado 10 cm en el suelo. Las jaulas semi-abiertas eran idénticas a las de exclusión, con la excepción de que la malla tenía seis aberturas rectangulares (2 x 20 cm) distribuidas en varias direcciones, y no llevaban el anillo de metal enterrado en el suelo. Las plantas abiertas consistieron en plantas sin jaula, marcándolas con cinta amarilla para detectar su ubicación.

Previo a instalar estos tratamientos, se removieron todos los áfidos y artrópodos desde cada planta experimental. Esto se hizo a través de una aspiradora entomológica y repetidas sacudidas hasta asegurarse que la planta quedara libre de estos artrópodos. Luego, en cada planta se depositaron 20 ninfas de áfidos (*A. pisum*), de aproximadamente cuarto estadio, o adultos ápteros. Esta es la especie de áfido más abundante en alfalfaes y el más consumido por coccinélidos (Molina 2021, Ximénez-Embun *et al.* 2014). Estos áfidos fueron previamente criados en el laboratorio sobre plantas de haba (*Vicia faba* L.) en condiciones controladas, con temperaturas entre 19-21°C con una humedad relativa de 54% y horas luz/oscuridad de 16/8 horas, respectivamente. Luego de una semana, se retiraron y contaron los áfidos presentes en cada planta. Estudios previos, describen que una semana de experimentación es suficiente para detectar efectos en las exclusiones, evitando así: i) la aparición de áfidos alados en las jaulas de exclusión, que se desarrollan cuando hay una alta densidad poblacional, ii) la emigración debido al hacinamiento y iii) la disminución de la calidad de las plantas que tiende a ocurrir cuando los enemigos naturales se excluyen de las colonias de pulgones durante períodos prolongados (Bannerman *et al.*, 2018; Grez *et al.*, 2014; Kucharik *et al.*, 2016). Para evaluar la reproducción en este periodo, también en los tres tratamientos se contaron las ninfas nacidas en la semana de experimentación.



Fig. 2. Distribución en el campo de los tratamientos de exclusión de enemigos naturales, dispuestos en tres parcelas separadas por 10 m entre sí. A= Abierta, sin exclusión; E= Exclusión; S= Semi-abierta, con mallas perforadas. Esto se repitió en 9 alfalfales.

Para evaluar el efecto de la exclusión sobre la abundancia de áfidos primero se analizó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk. Como los datos no fueron normales, la comparación entre tratamientos se hizo mediante un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal Wallis). Si habían diferencias significativas, se hizo la prueba post hoc de Dunn para determinar qué tratamientos diferían. Estos análisis se realizaron en el programa R v.3.6.9 (R Core Team, 2019).

Con los resultados de la abundancia de áfidos en cada tratamiento a los 7 días se calculó un índice del servicio de control biológico (BSI, Gardiner *et al.*, 2009):

$$BSI = \frac{\sum_{p=1}^3 \frac{(Ae, p - Aa, p)}{Ae, p}}{n}$$

donde Ae es el número de áfidos en las plantas en jaulas excluidas al día 7, Aa es el número de áfidos en las plantas abiertas al día 7, p es la sub-parcela, y n es el número de subparcelas por alfalfal ($n = 3$). El BSI varía entre rangos 0 y 1, con valores cercanos a 1 cuando la depredación sobre áfidos incrementa, y cercanos a 0 cuando disminuye esta depredación. Se obtuvo un BSI por alfalfal puesto que las repeticiones de los tratamientos dentro de cada alfalfal no son independientes. Estos valores de BSI se

usaron para los objetivos 2 y 3 de este estudio.

Caracterización de la diversidad taxonómica y funcional de coccinélidos (Objetivos 2 y 3)

En forma paralela a los experimentos de exclusión, se colectaron coccinélidos pasando una red entomológica de 25 cm de diámetro. En cada alfalfal, los días 1 (instalación) y 7 (retiro) de los experimentos se pasó la red 50 veces en 4 puntos distintos y cercanos, pero no dentro de las parcelas (200 redadas cada vez en cada alfalfal, en total 400 redadas por alfalfal). Los datos del día 1 y 7 se agruparon para representar los ensambles de coccinélidos que había en el momento que se realizaron los experimentos de exclusión en cada alfalfal. La caracterización taxonómica de los ensambles se hizo a partir del cálculo de la riqueza de especies (Chao-1), diversidad de Shannon-Wiener y de Simpson, y equitabilidad, usando el programa Past (Hammer *et al.*, 2001), llegando al nivel especie de identificación. La caracterización funcional de coccinélidos se hizo basada en índices multi-rasgos (Cadotte *et al.*, 2011, Casanoves *et al.*, 2011a). Los rasgos considerados fueron: i) tamaño corporal, ii) especialización de hábitat, y iii) microhábitat. El tamaño de cada especie corresponde a la dimensión lineal desde la cabeza al final del abdomen y se tomó de la literatura (González 2006, Grez *et al.*, 2019, 2021). La especialización del hábitat, la cual se calcula para una determinada especie como el coeficiente de variación ($CV = \text{desviación estándar} / \text{media}$) en sus densidades en los diferentes tipos de hábitat muestreados en una región / temporada de crecimiento determinada. Mientras mayor el CV mayor es la especialización de hábitat. El uso del microhábitat por cada especie se obtuvo a partir de Álvarez (2019) y corresponde a la proporción de individuos en la parte apical, dividido por la abundancia de coccinélidos encontrados en el total de la planta (apical más basal).

Para los índices múltiple-rasgos, usando los tres rasgos indicados anteriormente, luego de estandarizarlos se estimó la riqueza funcional (FRic: extensión con la que se distribuyen los valores de rasgos de las especies pertenecientes a una comunidad), la dispersión funcional (FDis: la distancia promedio de cada especie -en el espacio de los rasgos- con respecto al centroide del total de especies de una comunidad), la divergencia funcional (FDiv: cómo los valores de rasgos se reparten en el espacio de rasgos) y la equitabilidad funcional (FEve: regularidad en la distribución de los rasgos, considerando la abundancia de cada nivel de rasgo en la comunidad). Estos índices funcionales se estimaron con el programa FDiversity ® 1 (Casanoves *et al.*, 2011b).

RESULTADOS

Experimento de exclusión para estimar el servicio de control biológico (Objetivo 1)

El número de áfidos presentes luego de 7 días en los tratamientos Exclusión, Semi abierto y Abierto varió significativamente (Kruskal-Wallis, $P=0,01$), siendo mayor en las plantas sin acceso de enemigos naturales (Promedio \pm error estándar, Exclusión: $20,5 \pm 3,7$ áfidos) que en las expuestas a los enemigos naturales (Abierto: $7,5 \pm 1,9$) (Fig. 3). Los áfidos en el tratamiento Semi abierto obtuvieron valores intermedios ($12,2 \pm 2,6$). (Fig. 3).

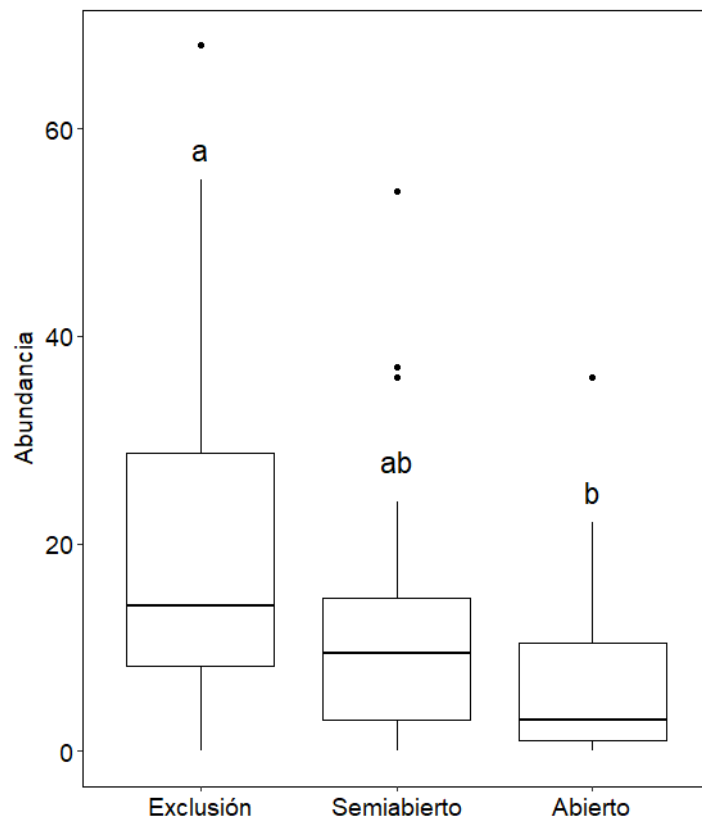


Fig. 3 Box plot de distribución de áfidos (*A. pisum*) presentes en los 3 tratamientos, donde Exclusión no permite el acceso de enemigos naturales, Semi abierto permite el acceso, pero de manera controlada por el efecto malla y Abierto permite libremente el acceso a enemigos naturales. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas según Prueba de Dunn.

Índice de Control Biológico (BSI)

El índice de control biológico varió entre 1 en el Alfalfal 8, el índice más alto dentro del rango posible, a 0,04 en el Alfalfal 2 (Tabla 1).

Tabla 1. Índice de servicio de biocontrol (BSI) por alfalfal.

Alfalfal	A2	A8	A10	A11	A12	A13	A14	A18	A19
BSI	0,04	1	0,64	0,92	0,92	0,79	0,22	0,16	0,61

Relación entre la diversidad taxonómica de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfales (Objetivo 2).

Durante los experimentos se recolectaron 275 coccinélidos de 9 especies en los 9 alfalfales durante el periodo comprendido entre el 30 de agosto al 10 de septiembre de 2019. Seis de estas fueron especies nativas y tres exóticas, con una abundancia del 14% y 86% del total de coccinélidos colectados, respectivamente. Las tres especies más abundantes fueron las exóticas *H. variegata* y *H. axyridis* y la nativa *Eriopis chilensis* Hofmann (Tabla 2). Las especies de áfidos encontradas fueron *A. craccivora*, *A. pisum* y *T. trifolii*, con una abundancia total de 12242 individuos.

Tabla 2. Abundancia de especies de coccinélidos y áfidos colectados en redes entomológicas, indicando abundancia total y por alfalfal. Las especies se presentan en orden de abundancia.

Especie	Total	A2	A8	A10	A11	A12	A13	A14	A18	A19
<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze)*	165	32	12	20	28	17	11	2	21	22
<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas)*	68	9	23	8	4	3	2	14	5	0
<i>Eriopis chilensis</i> Hofmann	23	6	11	1	1	2	1	1	0	0
<i>Eriopis eschscholtzii</i> Mulsant	9	7	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Adalia angulifera</i> Mulsant	3	0	0	0	2	0	0	1	0	0
<i>Hippodamia covergens</i> Guerin-Meneville*	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Hyperaspis sphaeridioides</i> (Mulsant)	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Cycloneda sanguinea</i> (L.)	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Adalia deficiens</i> Mulsant	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Áfidos totales	12242	2421	1564	868	2492	97	226	770	2445	1359

* Especies exóticas

La diversidad de Shannon-Wiener, Simpson y Equitabilidad de coccinélidos fueron mayores en los alfalfaes A2 , A8 y A14, y menores en alfalfal 19 (A19), con la menor diversidad y mayor dominancia (Tabla 3). La riqueza de especies de coccinélidos, estimada a través de Chao- 1, varió entre 2 especies en el A19 y 5 especies en el A11 (Tabla 3). Los dos primeros factores del PLS que relaciona la diversidad taxonómica de los coccinélidos con el BSI explican el 75,3% de la varianza, y muestra una asociación positiva entre el BSI y la Equitabilidad de los ensambles de coccinélidos (Fig.4). Las otras variables de diversidad taxonómica no se asocian al BSI (Fig. 4).

Tabla 3. Diversidad taxonómica de coccinélidos por alfalfal, colectados durante el 30 de agosto y el 10 de septiembre de 2019.

Alfalfal	A2	A8	A10	A11	A12	A13	A14	A18	A19
Diversidad de Simpson	0,60	0,64	0,50	0,45	0,39	0,47	0,51	0,37	0,09
Diversidad de Shannon-Wiener	1,15	1,06	0,90	0,97	0,73	0,96	1,11	0,67	0,20
Equitabilidad	0,83	0,97	0,65	0,60	0,67	0,69	0,69	0,61	0,29
Chao-1	4	3	4,97	5	3	4,47	5,32	3	2

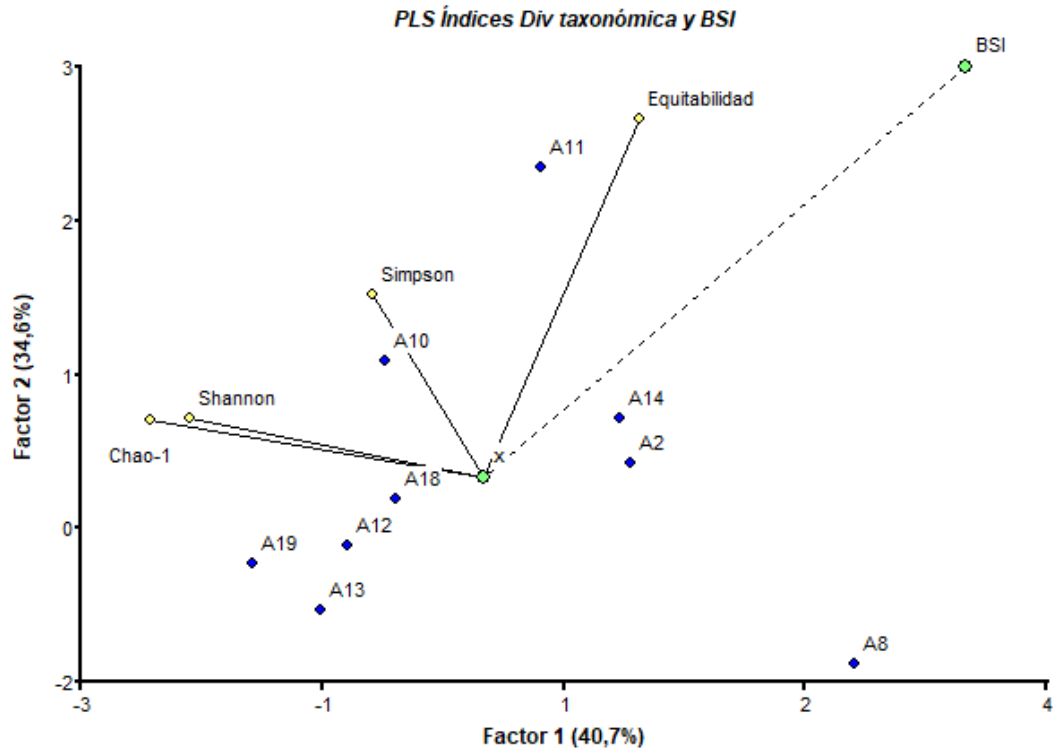


Fig. 4. PLS entre los índices de diversidad taxonómica y el índice de control biológico (BSI) estimado a partir de los experimentos de exclusión en nueve alfalfaes de la Región Metropolitana. Cada rombo azul representa cada alfalfal y los vectores los índices de diversidad taxonómica (Chao-1, Shannon, Simpson y Equitabilidad, en amarillo) y el BSI (en verde). Los vectores más largos y con ángulos más agudos se asocian positivamente.

Relación entre la diversidad funcional de coccinélidos con la depredación de áfidos en alfalfaes (Objetivo 3)

Las especies de coccinélidos recolectados varían en sus rasgos. El tamaño corporal varía entre 7,3 cm en *H. axyridis* a 2,5 cm en *H. sphaeridioides* (Tabla 4). En cuanto a la especialización de hábitat, la más generalista es *H. sphaeridioides*, con un $CV_{\text{hábitat}}$ de 0,91 y la más especializada es *H. axyridis*, con un $CV_{\text{hábitat}}$ de 2,07 (Tabla 4). Las especies también varían en el uso del microhábitat, con algunas especies encontradas exclusivamente en la parte apical de la planta (i.e., *A. angulifera*) y otras que se pueden encontrar tanto en la parte apical como basal (i.e., *H. convergens*) (Tabla 4).

Tabla 4. Rasgos para calcular índices de diversidad funcional en coccinélidos. El tamaño corporal (mm) se estima desde la cabeza al final del abdomen; el $CV_{\text{hábitat}}$ representa cuán generalistas son las especies en función de cuánto varía su abundancia en los distintos tipos de usos de suelo, con valores mayores representando a especies más especialistas y valores menores a especies más generalistas; el uso del microhábitat representa la proporción de individuos de cada especie encontrados en la parte apical de la planta. na: dato no disponible. Rasgos tomados de González (2006), Grez *et al.*, (2019, 2021) y Álvarez (2019).

Especie	Tamaño corporal	CV hábitat	Microhábitat
<i>Adalia angulifera</i> Mulsant	3,1	1,47	1,00
<i>Adalia deficiens</i> Mulsant	4,5	1,72	0,80
<i>Cycloneda sanguinea</i> (L.)	5,3	1,89	0,67
<i>Eriopis chilensis</i> Hofmann	5,1	1,05	0,77
<i>Eriopis eschscholtzii</i> Mulsant	4,3	1,05	0,67
<i>Hyperaspis sphaeridioides</i> (Mulsant)	2,5	0,91	na
<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas)	7,3	2,07	0,80
<i>Hippodamia covergens</i> Guerin-Meneville	5,4	1,97	0,52
<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze)	4,6	1,32	0,72

Con los valores de rasgos (Tabla 4) y la abundancia relativa de las especies de coccinélidos en cada alfalfa se calcularon los índices de diversidad funcional multi-rasgos. La riqueza de rasgos (FRic) varió entre un valor de 0,15 en los alfalfas A2 y A13 a 3,33 en el alfalfal A11; la equitabilidad funcional (FEve) varió entre 0,41 en A10 y 0,68 en A14; la divergencia funcional (FDiv) entre 0,45 en A11 y 0,97 en A19 y la dispersión funcional (FDis) entre 0,71 en A12 y A13 y 1,52 en el A14 (Tabla 5). En general, el A14 tiene los valores más altos de estos índices de diversidad funcional en tanto el A13 tiene los más bajos (Tabla 5). Los dos primeros factores del PLS que relaciona la diversidad funcional de los coccinélidos con el BSI explican el 72,4% de la varianza, y muestra una asociación positiva entre el BSI y la riqueza funcional (FRic) de los ensambles de coccinélidos (Fig. 5).

Tabla 1. Índices de funcionalidad multirasgos por alfalfal. FRic: Riqueza funcional, FEve: Equitabilidad funcional, FDis: Dispersión funcional, FDiv: Divergencia funcional.

Alfalfal	A2	A8	A10	A11	A12	A13	A14	A19
FRic	0,15	1,21	0,34	3,33	1,21	0,15	1,71	1,39
FEve	0,58	0,63	0,41	0,44	0,48	0,58	0,68	0,36
FDiv	0,53	0,83	0,73	0,45	0,65	0,47	0,90	0,97
FDis	0,88	1,47	1,13	0,88	0,71	0,71	1,52	0,9

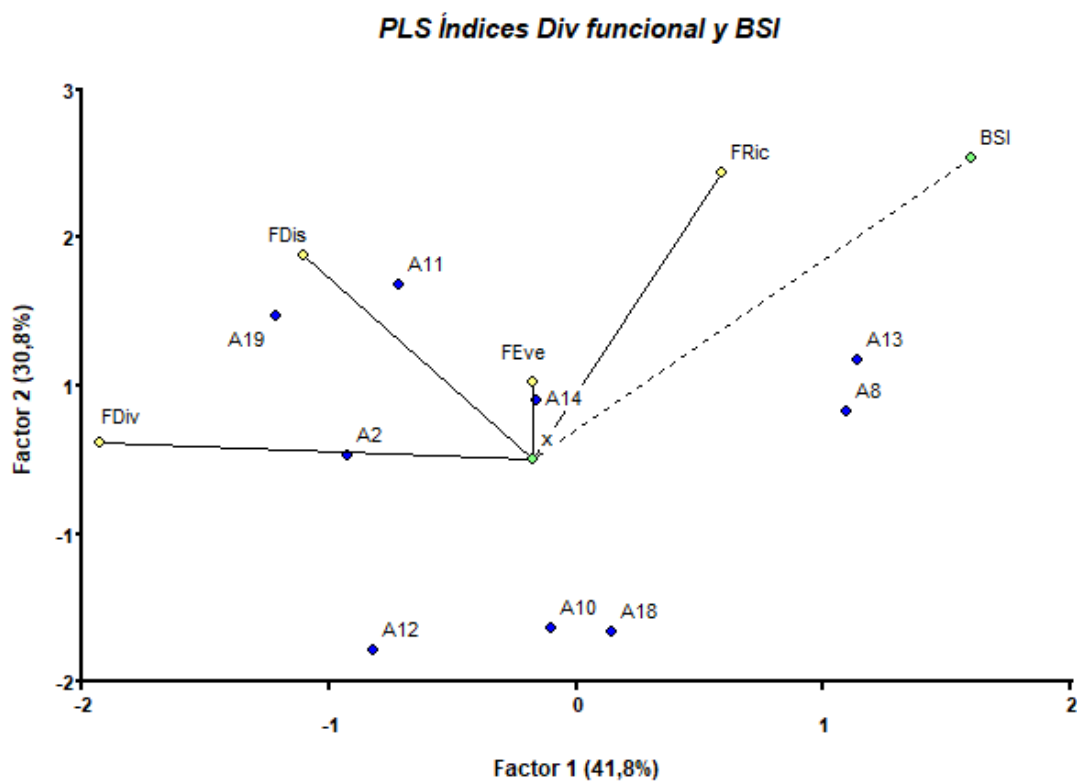


Fig. 5. PLS entre los índices de diversidad funcional y el índice de control biológico (BSI) estimado a partir de los experimentos de exclusión en nueve alfalfales de la Región Metropolitana. Cada rombo (azul) representa cada alfalfal y los vectores los índices de diversidad funcional de Equitabilidad (FEve), riqueza (FRic), dispersión (FDis) y divergencia (FDiv), (en amarillo) y el BSI (en verde). Los vectores más largos y con ángulos más agudos se asocian positivamente.

DISCUSIÓN

En la literatura universal, se ha mostrado la asociación positiva que existe entre la diversidad de los ensamblajes de enemigos naturales con el servicio control biológico. Sin embargo, estos estudios aún son bastante incompletos. Aquellos basados en diversidad funcional (i.e., de rasgos) son todavía escasos en comparación con los estudios de diversidad basados en índices taxonómicos (i.e., de especies), y aún más acotados son los trabajos que han estudiado el rol de la diversidad taxonómica y funcional de enemigos naturales en el control biológico de plagas. Esta Memoria de Título es el primer estudio que analiza el rol de ambos tipos de diversidad de los ensamblajes de coccinélidos sobre el control biológico de áfidos.

Los experimentos de exclusión de enemigos naturales muestran que efectivamente hay un impacto significativo de esta manipulación en el número de áfidos, lo que evidencia el rol de los enemigos naturales en disminuir las poblaciones de estas plagas. Esto coincide con lo encontrado por Gardiner *et al.* (2009) en cultivos de soja en EE.UU. y con Grez *et al.* (2014) en alfalfales en Chile central, quienes también evaluaron el BSI con experimentos de exclusión. Trabajos previos con áfidos centinela han mostrado que los principales enemigos naturales de áfidos en alfalfa en Chile central son los coccinélidos. Ximénez-Embun *et al.* (2014), observaron que tanto en primavera, verano y otoño de la temporada 2009-2010 los coccinélidos eran los enemigos naturales que más frecuentemente visitaban las placas con áfidos centinela, representando hasta un 51% del total de visitas, de las cuales la mayoría eran especies de coccinélidos nativos. En el año 2019, en paralelo a esta Memoria de Título, se repitieron estos experimentos con áfidos centinelas, observándose un aumento de las visitas de coccinélidos a las placas, con un 86% del total de visitas (Molina, 2021), corroborando que los principales depredadores de áfidos en este cultivo son este grupo de coleópteros. Sin embargo, contrario a lo observado por Ximénez-Embun *et al.* (2014), en el trabajo de Molina (2021) la mayoría de las visitas a placas con áfidos centinelas fueron coccinélidos exóticos, principalmente *H. variegata*, lo que se relaciona con la alta abundancia de esta especie en los alfalfales observada en los muestreos con redes efectuados en esta Memoria de Título (Tabla 1), en que, en total, 165 de los 275 coccinélidos colectados (60%) fueron de esta especie, seguida por la especie invasora *H. axyridis* (25%). Los coccinélidos nativos fueron sólo el 14% del total colectado y su menor abundancia relativa se repitió en todos los alfalfales (Tabla 1). Este y otros trabajos en los últimos años en alfalfales de Chile central han mostrado que las exóticas *H. variegata* y *H. axyridis* se han vuelto dominantes. *H. axyridis*, especie de origen asiático considerada invasora en muchas partes del mundo (Grez *et al.*, 2016), llegó a Chile 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 *et al.*, 2014; 2016). Pero en los últimos años se indica una disminución en la abundancia de *H. axyridis* y un cambio de dominancia por *H. variegata*, la que alcanza hasta el 80% de los ensambles en alfalfa de la Región Metropolitana, haciéndolos menos equitativos. El cambio de dominancia entre *H. axyridis* y *H. variegata* no ha resultado en la recuperación de la diversidad de especies nativas, y a esto se suma la creciente perturbación de hábitats, eliminación de bordes de hábitats naturales o seminaturales y la consecuente homogenización del paisaje (Grez *et al.*, 2016; 2021), lo que dificulta aún más la restauración de los ensambles de coccinélidos nativos.

La declinación de coccinélidos nativos es compleja y puede significar una disminución en el servicio de control biológico de áfidos, considerando que en el pasado mientras más coccinélidos nativos habían en alfalfa mayor era el BSI (Grez *et al.*, 2014). Lo mismo se observa en este trabajo, donde el alfalfal 8 que presentó una mayor abundancia relativa de la especie nativa *E. chilensis*, el BSI fue igual a 1, es decir, el máximo BSI posible. Por ello, es relevante tomar medidas para recuperar a esta fauna nativa.

Al relacionar el BSI con los índices de diversidad taxonómica del ensamble de coccinélidos se observa una asociación positiva entre el BSI y la Equitabilidad, al presentar un ángulo agudo en el PLS (Fig. 4). Esto implica que alfalfales que tengan ensambles con especies de coccinélidos más similares en sus abundancias tendrían un mayor control biológico. En otros sistemas en Norte América, también se ha observado que la equitabilidad de enemigos naturales se relaciona positivamente con el control biológico de plagas. Crowder *et al.* (2010) manipularon la equitabilidad de depredadores y patógenos en campos de papas en Washington, Norteamérica, y encontraron que en campos orgánicos había una mayor equitabilidad que en convencionales, y que esto se traducía en un mayor control biológico de escarabajo de la papa, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). La equitabilidad de los ensambles de enemigos naturales de plagas ha sido poco considerada en la literatura hasta el momento, con la mayor parte de las investigaciones concentrándose en el rol de la riqueza de especies de enemigos naturales en el control biológico, variable que según varios trabajos se asocia positivamente con una mayor depresión de plagas. Sin embargo, en esta Memoria de Título no se observó una asociación positiva con la riqueza de especies de coccinélidos (Fig. 4). Tampoco se observó una asociación positiva con los índices de diversidad de Shannon y Simpson, con los que el vector del BSI forma ángulos rectos o algo obtusos (Fig. 4). Lo anterior, sugiere que en alfalfa se deben favorecer ensambles de coccinélidos en los cuales no domine alguna especie, como está ocurriendo ahora con *H. variegata*. Es interesante hacer notar que

estudios moleculares del contenido estomacal de *H. variegata* han mostrado que esta especie es bastante generalista, incluyendo otras presas, como otros insectos y polen en su dieta y no tanto áfidos (Romero, 2021), por lo que su rol en el control de áfidos no sería muy relevante y su dominancia en los alfalfaes sería perjudicial para este servicio. El aumento de la equitabilidad de los ensamblajes de coccinélidos en alfalfaes se puede lograr aumentando los hábitats que favorezcan a otras especies, como las nativas (Grez et al. 2021). O como menciona Crowder *et al.* (2010), una de las soluciones para mantener una uniformidad en los ensamblajes de enemigos, es evitar el uso de plaguicidas de amplio espectro, incentivando el uso de una agricultura orgánica.

Al relacionar el BSI con los índices de diversidad funcional del ensamblaje de coccinélidos, se observó que existe una asociación positiva entre BSI y FRic (Fig. 5), un índice que sólo considera la presencia/ausencia de rasgos (Casanoves *et al.*, 2011a). Es decir, mientras más rasgos distintos y niveles dentro de esos rasgos en el ensamblaje, mayor es el BSI. Es posible que esto se deba a que las especies nativas son el doble de las exóticas (6 y 3, respectivamente), aportando con más rasgos. Por otro lado, no se observó una asociación entre el BSI y los índices de diversidad funcional que consideran la abundancia de los rasgos (FEve, FDis y FDiv), aunque el vector FDiv se encuentra en posición opuesta, pero no totalmente con el vector BSI (Fig. 5). En Grez *et al.* (2021) ocurrió una asociación positiva entre FDis y la abundancia y proporción de coccinélidos nativos, y una asociación negativa con la abundancia de coccinélidos exóticos. En dicho trabajo se concluye que las especies exóticas homogenizan los ensamblajes, tanto funcional como taxonómicamente. Es posible, entonces, que en el presente estudio, la ausencia de asociación positiva entre FDis y BSI se deba a la baja abundancia de coccinélidos nativos en los alfalfaes experimentales.

En síntesis, este trabajo demuestra que los coccinélidos son importantes enemigos naturales de áfidos en alfalfaes de Chile central, ejerciendo un control biológico sobre sus poblaciones, y, por otra parte, indica que este servicio es mejor mientras mayor es la equitabilidad de los ensamblajes de coccinélidos y mayor es su riqueza funcional. La evidencia en este y otros trabajos resalta la importancia de mantener coccinélidos nativos en alfalfaes para asegurar una mayor diversidad taxonómica y funcional de los ensamblajes y un mejor servicio de control biológico. Por ello, se deben tomar medidas para disminuir la declinación de coccinélidos nativos que ha ocurrido en el último tiempo en alfalfaes de esta región, minimizando la intensificación de los paisajes agrícolas, la pérdida de hábitat natural y semi-natural y disminuyendo la presencia de especies invasoras.

CONCLUSIONES

Las especies dominantes en los alfalfaes fueron especies exóticas (86%) concordando con la tendencia en los últimos años de la pérdida de especies nativas en estos cultivos.

El experimento de exclusión evidencia que los coccinélidos ejercen un control biológico sobre áfidos en alfalfaes de la Región Metropolitana, confirmando lo observado en estudios previos.

El control biológico (BSI) se asocia positivamente con la equitatividad taxonómica de los ensamblajes y con la riqueza de rasgos, por lo que hay que promover ensamblajes de coccinélidos con abundancias similares de las especies, sin dominancia de exóticas, y una mayor presencia de especies nativas que aportan diversidad funcional.

BIBLIOGRAFÍA

ALHADIDI, S.N.; FOWLER, M.S.; GRIFFIN, J.N. (2019). Functional diversity of predators and parasitoids does not explain aphid biocontrol efficiency. *Biol Control* 64: 303-313.

ÁLVAREZ, A. (2019). Uso del microhábitat por especies de coccinélidos asociados a alfalfa y su variación a lo largo del día. Proyecto de título Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile.

BANNERMAN, J.A.; MCCORNACK, B.P.; RAGSDALE, D.W.; KOPERD, N.; COSTAMAGNA, A.C. (2018). Predators and alate immigration influence the season- long dynamics of soybean aphid (Hemiptera: Aphididae). *Biol Control*. 117: 87–98.

BOMMARCO, R.; KLEIJN, D.; POTTS, S.G. (2013). Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends Ecol. Evol.* 28(4): 230-238.

CADOTTE, M.W.; CARSCADDEN, K.; MIROTCHEV, N. (2011). Beyond species: Functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *J. Appl. Ecol.* 48(5): 1079-1087.

CASANOVES, F.; PLA, L.; DI RIENZO, J.A. (2011)a. Validación y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE. Turrialba, Costa Rica. 5-47.

CASANOVES, F.; DI RIENZO, J.A.; DÍAZ, S. (2011)b. FDiversity: a software package for the integrated analysis of functional diversity. *Methods Ecol Evol.* 2: 233-237.

CROWDER, D.W.; NORTHFIELD, T.D.; STRAND, M.R.; SNYDER, W.E. (2010). Organic agriculture promotes evenness and natural pest control. *Nature*. 466: 109-112.

DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. (2016). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. [en línea] <<http://www.infostat.com.ar>> [consulta: 12-10-2019].

EVAN, E.W. (2004) Habitat displacement of North American ladybirds by an introduced species. *Ecology*. 85: 637 - 647.

FAHRIG, L.; BAUDRY, J.; BROTONS, L.; BUREL, F.G.; CRIST, T.O.; FULLER, R.J.; SIRAMI, C.; SIRIWARDENA, G.M.; MARTIN, J.L. (2011). Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecol Lett*. 14(2): 101-112.

GAGIC, V.; TSCHARNTKE, T.; SLADE, E.M.; JONSSON, T.; FISCHER, C.; STEFFAN-DEWENTER, I.; BOMMARCO, R. (2015). Functional identity and diversity of animals predict ecosystem functioning better than species-based indices. *Proc. R. Soc. Lond. B* 282(1801): 20142620.

GARDINER, M.M.; LANDIS, D.A.; GRATTON, C.; DIFONZO, C.D.; O'NEAL, M.; CHACON, J.M.; WAYO, M.T.; SCHMIDT, N.P.; MUELLER, E.E.; HEIMPEL, G.E. (2009). Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest. *Ecol. Appl*. 19(1): 143-154.

GONZÁLEZ, G. (2020). Lista actualizada de especies de Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile [en línea] <<http://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/Paginas/InicioChi.php>> [consulta: 06-05-2021].

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.

GREZ, A.A.; ZAVIEZO, T.; GONZÁLEZ, G.; ROTHMANN, S. (2010). *Harmonia axyridis* in Chile: a new threat. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, 37 (3): 145-149. *Cien. Inv. Agr.* 3

GREZ, A.A.; RAND, T.; ZAVIEZO, T.; CASTILLO, F. (2013). Land-use intensification differentially benefits alien over native coccinellids in agricultural landscape mosaics. *Divers. Distrib.* 19: 749-759.

GREZ, A.A.; ZAVIEZO, T.; GARDINER, M.M. (2014). Local predator composition and landscape affects biological control of aphids in alfalfa fields. *Biol Control*. 76: 1-9.

GREZ, A.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. *Divers Distrib.* 22 (9): 982-994.

GREZ, A.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 Conserv Divers.* 14 (4): 464-475.

HAMMER, D.A.T.; RYAN, P.D.; HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T. (2001). Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4: 1–9.

JOON, J.; CHO, J.; KIM, J-H.; SEO, B. (2020). Thermal effects on the population parameters and growth of *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae). *Insects*. 11: 4-11.

KUCHARIK, C.J.; MORK, A.C.; MEEHAN, T.D.; SERBIN, S.P.; SINGH, A.; TOWNSEND, P.A.; STACK WHITNEY, K.; GRATTON, C. (2016). Evidence for compensatory photosynthetic and yield response of soybeans to aphid herbivory. *J. Econ. Entomol.* 109: 1177–1187.

KUNDOO, A.A.; KHAN, A.A. (2017). Coccinellids as biological control agents of soft bodied insects: A review. *J Entomol Zool Stud.* 5 (5): 1362-1373.

LANDIS, D.A. (2017). Designing agricultural landscapes for biodiversity-based ecosystem services. *Basic Appl. Ecol.* 18: 1-2.

LICHTENBERM, E.M.; KENNEDY, C.M.; KREMEN, C.; BATARY, P.; BERENDSE, F.; BOMMARCO, R.; BOSQUE-PEREZ, N.A.; CARVALHEIRO, L.G.; SNYDER, W.E.; WILLIAMS, N.M.; WINFREE, R.; KLATT, B.K.; ASTRÖM, S.; BENJAMIN, F.; BRITTAIN, C.; CHAPLIN-KRAMER, R.; CLOUGH, Y.; DANFORTH, B.; DIEKÖTTER, T.; EIGENBRODE, S.D.; EKROOS, J.; ELLE, E.; FREITAS, B.M.; FUKUDA, Y.; GAINES- DAY, H.R.; GRAB, H.; GRATTON, C.; HOLZSCHUH, A.; ISAACS, R.; ISAIA, M.; JHA, S.; JONASON, D.; JONES, V.P.; KLEIN, A.; KRAUSS, J.; LETOURNEAU, D.K.; MACFADYEN, S.; MALLINGER, R.E.; MARTIN, E.A.; MARTINEZ, E.; MEMMOTT, J.; MORANDIN, L.; NEAME, L.; OTIENO, M.; PARK, M.G.; PFIFFNER, L.; POCOCK, M.J.O; PONCE, C.; POTTS, S.G.; POVEDA, K.; RAMOS, M.; ROSENHEIM, J.A.; RUNDÖLF, M.; SARDIÑAS, H.; SAUNDERS, M.E.; SCHON, N.L.; SCILIGO, A.M.; SHEENA SIDHU, C.; STEFFAN-DEWENTER, I.; TSCHARNTKE, T.; VESELÝ, M.; WEISSER, W.W.; WILSON, J.K.; COWDER, D.W. (2017). A global synthesis of the effects of diversified farming systems on arthropod diversity within fields and across agricultural landscapes. *Glob Chang Biol.* 23: 4946–4957.

LIERE, H.; JHA, S.; PHILPOTT, S.M. (2017). Intersection between biodiversity conservation, agroecology, and ecosystem services. *Agroecology and sustainable Food Systems.* 41 (7): 723-760.

MASON, N.W.H.; MOUILLOT, D.; LEE, W.G.; WILSON, B. (2005). Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111: 112-118.

MENESES-R, O.E.; ARMBRECHT, I. (2018). Índice de intensificación agrícola y conservación vegetal en bosques y cafetales colombianos con diferentes estrategias de manejo. *Caldasia*, 40 (1): 161–176.

MOLINA, M.G. (2021). Frecuencia de visitas de coccinélidos nativos y exóticos a áfidos centinela en alfalfa. Memoria de Título, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

OBERTI, R. (2020). Dinámica temporal de poblaciones de coccinélidos asociados a alfalfa. Memoria de Título, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

R CORE TEAM. (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REDHEAD, J.W.; POWNEY, G.D.; WOODCOCK, B.A.; PYWELL, R.F. (2020). Effects Of future agricultural change scenarios on beneficial insects. *J Environ Manage* 265: 5-9.

ROJAS, S. (2005). Control biológico en plagas en Chile: historia y avances, colección libros INIA N° 12. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile.

ROMERO, V. (2020). 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. Memoria de título para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

ROQUER-BENI, L.; ALANIS, G.; ARNAN, X.; BOREUX, V.; GARCÍA, D.; HAMBÄCK, P.A.; HAPPE, A-K.; KLEIN, A-M.; MIÑARRO, M.; MODY, K.; PORCEL, M.; RODRIGO, A.; SAMNEGÅRD, U.; TASIN, M.; BOSCH, J. (2021). Management-dependent effects of pollinator functional diversity on apple pollination services: A response–effect trait approach. *J Appl Ecol.* 1–11.

RONDONI, G.; BORGES, I.; COLLATZ, J.; CONTI, E.; COSTAMAGNA, A. C.; DUMONT, F.; EVANS, E.W.; GREZ, A.A.; HOWE, A.G.; LUCAS, E.; MAISONHAUTE, J.; SOARES, A.O.; ZAVIEZO, T.; COCK, M.J.W. (2021). Exotic ladybirds for biological control of herbivorous insects—a review. *Entomol Exp Appl.* 169: 6–27.

RUSCH, A.; CHAPLIN-KRAMER, R.; GARDINER, M.M.; HAWRO, V.; HOLLAND, J.; LANDIS, D.; BOMMARCO, R. (2016). Agriculture, ecosystems and environment agricultural landscape simplification reduces natural pest control: A quantitative synthesis. *Agric. Ecosyst. Environ.* 221: 198-204.

SMITH, T.; SMITH, R. (2007). Capítulo 2: Adaptación y evolución. In: *Ecología* 6a edi. PEARSON EDUCACIÓN S.A. Madrid, España. 17-42.

STRAUB, C.A.; FINKE, D.L.; SNYDER, W.E. (2008). Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control* 45: 225-237.

SNYDER, W.E. (2019). Give predators a complement: Conserving natural enemy biodiversity to improve biocontrol. *Biol. Control.* 135: 73-82.

ULINA, E.S.; RIZALI, A.; MANUWOTO, S.; PUJANTO; BUCHORI, D. (2020). Distance of agricultural land from natural habitat affects the functional trait diversity and species diversity but not abundance of Hymenoptera parasites. *Earth and Environmental Science* 458.

VILLÉGER, S.; MIRANDA, J.R.; HERNÁNDEZ, D.F.; MOUILLOT, D. (2010). Contrasting changes in taxonomic vs functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. *Ecological Applications* 20: 1512-1522.

XIMÉNEZ-EMBUN, M.G.; ZAVIEZO, T.; GREZ, A.A. (2014). Seasonal, spatial and diel partitioning of *Acyrrhosiphon pisum* (Hemiptera: Aphisidae) predators and predation in alfalfa fields. *Biol Control*. 69: 1-7.

YACHI, S.; LOREAU, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 1463-1468.

YONG, A. (2010). La biodiversidad florística en los sistemas agrícolas. *CulTrop* 31 (4): 5-11.