



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

Implicancia del contexto paisajístico en la frecuencia de depredación de pulgón lanífero de manzano (*Eriosoma lanigerum*), mediante detección molecular de contenido estomacal de depredadores generalistas, en huertos de manzano

MEMORIA DE TÍTULO

Estefanía Alejandra Muñoz Quilodrán

**TALCA, CHILE
2022**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022

APROBACIÓN:



Profesor Guía:

Ing. Agrónomo Ph. Dr. Blas Lavandero Icaza
Profesor asociado
Instituto de Ciencias Biológicas
Universidad de Talca



Profesor informante:

Biol. Dr. Eduardo Fuentes Contreras
Profesor titular
Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca

Fecha de presentación de la defensa de Memoria: 27 de abril de 2022

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al profesor Blas Lavandero por la oportunidad de realizar la tesis en control biológico y ayudarme a aumentar mis conocimientos en un área que poco conocía en el pasado. También al profesor Eduardo Fuentes por las enseñanzas entregadas en el salón de clases sobre las plagas y como controlarlas. Asimismo, a las personas que conocí en el laboratorio de Control Biológico y la célula, como Cinthya Villegas, Nuri Cabrera, Angélica, María José, Enrique Maldonado, Camilo Salgado y Violeta Romero.

A mis amigos que me acompañaron en clases y en otras ocasiones para tener energía para las pruebas de la vida y de la Universidad: Gisella Vergara, Mariana Veliz, Isadora Pérez, Pablo Muñoz y Lucas Céspedes. De igual forma, a los profesores y ayudantes que estuvieron ahí siempre para mis consultas: Benita González, José San Martín, Gabriela Cofre, María Parada, Ricardo Cabeza, Flavia Schiappacasse, Camilo Riveros y Hernán Paillan.

Casi terminando, a las personas que siempre han estado ahí para ayudarme y acogerme en todo momento sin nada a cambio, mi familia. Que desde el comienzo que inicié la carrera me han ayudado y alentado a terminarla para tener un mejor futuro y ser alguien en la vida, como siempre me han dicho.

Por último, a mi pareja Roberto, que amo mucho y ha sido mi compañero por un largo tiempo, alentándome a terminar mi carrera cuando muchas veces desistía y quería rendirme, también le agradezco por darme ánimo cuando no quería estudiar para las pruebas y hacerme almuerzos cuando yo no tenía tiempo.

Finalmente, a mí misma por aguantarme en los momentos de más estrés y no desistir a pesar de todo, muchas veces contra viento y marea.

RESUMEN

En la actualidad existen variados estudios sobre el control biológico que otorgan los enemigos naturales para la supresión de plagas, aunque muchas veces estos son afectados por el ecosistema que los rodea, del cual necesitan múltiples recursos para que ejerzan su acción como controladores biológicos. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluó la relevancia de como paisajes más complejos que rodeaban a los huertos de manzano (*Malus domestica* Borkh), tendrían mayor frecuencia de depredación del pulgón lanígero del manzano (*Eriosoma lanigerum*, Hausmann) y acción sobre el control biológico.

Entonces, el estudio se realizó en 13 campos de manzano ubicados desde la zona precordillerana al Valle Central, entre la Región de O'Higgins y del Maule. Cada uno de estos campos estaba caracterizado según el porcentaje de área natural y semi-natural (ASN) que lo rodeaba. Por consiguiente, se observó 10 árboles de manzano y se recolectó a depredadores aledaños a la colonia de *Eriosoma lanigerum* o sobre ella. En seguida, los individuos recolectados se sometieron a técnicas de extracción de ADN, técnicas de PCR simple y múltiple, para analizar el contenido intestinal de los depredadores. Las principales especies de depredadores que se observaron fueron: *Eupeodes rojasi* (Diptera:Syrphidae), larvas de *Chrysoperla* sp. (Neuroptera:Chryopidae), coccinélidos adultos (Coleoptera:Coccinellidae) y *Aphelinus mali*, Haldeman (Hymenoptera:Aphelinidae).

Finalmente, se estableció la acción de enemigos naturales sobre la plaga, medidos en diferentes variables como: abundancia de depredadores, depredación intragremio (DIG), depredación intragremio coincidente (DIGc), proporción de parasitismo, proporción de *E. lanigerum* entre otras, en relación al porcentaje de ASN de cada campo. Sin embargo, no se encontró relación entre paisajes que estaban rodeados por mayores áreas naturales y las variables del estudio. A pesar de que diversas investigaciones mencionan que un paisaje complejo actuaría en beneficio de las variables explicadas. Por lo tanto, los resultados obtenidos pueden ser atribuidos a prácticas agrícolas que ocasionan un cambio en el entorno circundante a los campos y dentro de ellos, ocasionado una repercusión negativa sobre el estudio.

ABSTRACT

At present, there are several studies on the biological control provided by natural enemies for the suppression of pests, although these are often affected by the surrounding ecosystem, of which multiple resources are necessary for them to exert their action as biological controllers. Therefore, the present study evaluated the relevance of how more complex landscapes surrounding apple orchards (*Malus domestica* Borkh) would have a higher frequency of predation of the woolly apple aphid (*Eriosoma lanigerum*, Hausmann) and action on biological control.

The study was conducted in 13 apple orchards located from the foothills to the Central Valley, between the O'Higgins and Maule Regions. Each of these fields was characterized according to the percentage of natural and semi-natural area (SNA) that surrounded them. Therefore, 10 apple trees were observed and predators were collected near or on the *Eriosoma lanigerum* colony. Shortly after, the recaptured individuals were subjected to DNA extraction techniques, single and multiplex PCR techniques, to analyze the gut contents of the predators. The main species of predators observed were: *Eupeodes rojasi* (Diptera:Syrphidae), larvae of *Chrysoperla* sp. (Neuroptera:Chrysopidae), adult coccinellids (Coleoptera:Coccinellidae) and *Aphelinus mali*, Haldeman (Hymenoptera:Aphelinidae).

Finally, the action of natural enemies over the pest was established, measured in different variables such as: abundance of predators, intraguild predation (IGP), coincident intraguild predation (IGP-C), proportion of parasitism, proportion of *E. lanigerum*, among others, in relation to the percentage of SNA in each field. However, no relationship was found between landscapes that were surrounded by most natural areas and the explained variables. In spite of the fact that several researches mention that a complex landscape would act in benefit of these variables. Thence, the results obtained can be attributed to agricultural practices that cause a change in the environment surrounding and inside the fields, causing a negative impact over the study.

ÍNDICE

1 . INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis	3
1.2 Objetivo general	3
1.2.1 Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Generalidades del manzano	4
2.2 Plagas del manzano.....	4
2.2.1 Pulgón lanígero del manzano (<i>Eriosoma lanigerum</i>).....	5
2.3 Manejo integrado de plagas (MIP)	6
2.4 Control biológico (CB) y Control biológico de conservación (CBC).....	6
2.5 Enemigos naturales de <i>E. lanigerum</i>	7
2.5.1 Coccinélidos (Orden: Coleóptera, Familia: Coccinellidae)	8
2.5.2 Sífido (Orden: Diptera, Familia: Syrphidae).....	9
2.5.3 Chrysoperla (Orden: Neuróptera, Familia: Chrysopidae)	9
2.6 Incidencia de paisajes simples y complejos en control biológico	10
2.7 Depredación intragremio (DIG) y depredación intragremio coincidente (DIGc)	11
2.8 Análisis moleculares	11
3 . MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1 Ubicación del ensayo	13
3.1.1 Diseño experimental	13
3.1.2 Especificación de la composición del paisaje en torno a los campos de estudio.....	13
3.1.3 Evaluaciones en el campo	15
3.2 Colecta directa de las muestras.....	15
3.2.1 Colecta de depredadores de <i>E. lanigerum</i>	16
3.3 Identificación de especies	16
3.4 Análisis molecular de dietas	17
3.4.1 Análisis de dietas por la técnica de electroforesis	18
3.5 Frecuencia de depredación de <i>E. lanigerum</i>	19
3.6 Frecuencia de depredación intragremio (DIG)	20
3.7 Depredación intragremio coincidente (DIGc).....	20
3.8 Proporción de parasitismo	20
3.9 Análisis estadístico.....	21
4. RESULTADOS.....	22
4.1 Abundancia de enemigos naturales del pulgón lanígero del manzano	22
4.2 Relación entre la complejidad del paisaje y el control biológico.....	23

4.3 Frecuencia de depredación de <i>Eriosoma lanigerum</i>	25
4.4 Frecuencia de depredación intragremio (DIG)	26
4.5 Depredación intragremio coincidente (DIGc).....	28
4.6 Proporción de parasitismo	29
5. DISCUSIÓN	31
6. CONCLUSIONES	34
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de QGIS incluyendo al cuadrante N° 1..	15
Figura 2. Bandas amplificadas en mix A de <i>Chrysoperla</i> sp.	19
Figura 3. Especies y número de depredadores recolectados por categoría.	22
Figura 4. Depredador <i>H. variegata</i> que consumió solo dos especies de presas en categoría 1 (0-35% ASN).	23
Figura 5. Depredador <i>E. rojasí</i> que consumió cuatro especies de presas en categoría 2 (35-70% ASN).	24
Figura 6. Depredador en estado adulto de <i>A. angulifera</i> , que se alimentó de cuatro especies de presas en categoría 3 (70-100% ASN).	25
Figura 7: Proporción de detección de <i>E. lanigerum</i> en relación a la proporción de área natural y semi-natural (ASN) por campo.	26
Figura 8: Frecuencia de depredación intragremio (DIG) en relación a la proporción de ASN por campo.	27
Figura 9. Gráfico de dispersión según la proporción de proporción de ASN y proporción de individuos que presentaron ADN de parasitoide en su dieta (proporción DIGc).	29
Figura 10. Gráfico de dispersión entre proporción de <i>E. lanigerum</i> y proporción de parasitismo por categoría.	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Pares de partidores específicos de grupo y de especie con sus respectivas características.....	18
Cuadro 2: Datos relevantes de cada campo, ordenados por categoría.	27

1. INTRODUCCIÓN

La agricultura mundial se enfoca en la producción de diversos cultivos agrícolas para el sustento de la población. Estos son desarrollados mediante diferentes sistemas productivos, ya sean intensivos u orgánicos, los que son adoptados por cada productor según los recursos que posea y objetivo comercial del huerto.

El sistema intensivo es el que más se observa en la actualidad y se estima que fue aumentando desde 1940 (Ginocchio *et al.*, 2019). Según FAO (Food and Agriculture Organization), 2004, el sistema intensivo es catalogado como benefactor para la producción mundial de alimentos, siendo necesario implementar en instancias de rápido crecimiento de la población. Sin embargo, este sistema adopta prácticas intensivas, abarcando grandes superficies (sistemas extensivos) y, el uso excesivo de insumos (agua y agroquímicos), restringiendo así, la posibilidad de convivencia con otras especies vegetales que no son de interés productivo (Ginocchio *et al.*, 2019).

Por otro lado, la agricultura orgánica se enfoca en la disminución de la utilización de insumos, mediante reciclaje y manejo eficiente de materiales y energía, estableciendo un equilibrio ecológico, y hábitats para organismos benéficos, que mantendrán la diversidad del agro-ecosistema (INIA, 2007).

La zona norte-central de Chile presenta condiciones climáticas que permiten el desarrollo de la agricultura intensiva y especialmente la fruticultura. Estas condiciones se deben a la presencia del clima Mediterráneo, caracterizado por una marcada estacionalidad (Ginocchio *et al.*, 2019). Esta zona presenta una biodiversidad, con elevados porcentajes de especies endémicas (Cox and Underwood, 2011).

Basado en el estudio de Ortiz-Martínez *et al.*, (2019), el aumento de la diversidad de las plantas a escala de campo y de paisaje puede proporcionar estabilidad y resistencia al agro-ecosistema. Esta diversidad de plantas promueve las interacciones biológicas entre los enemigos naturales y las plagas. Por ende, es necesario de originar prácticas que se enfoquen en la diversificación, conservación de zonas que sean productivas, y áreas de vegetación espontánea cercanas a zonas cultivadas. De esta forma se garantizan mayores niveles de biodiversidad funcional y servicios ecológicos que ellas otorgan (Dubrovsky *et al.*, 2017), implementando buenas prácticas agrícolas que aporten beneficios eco-sistémicos tanto para los agricultores como para el medioambiente (Chappell y La Valle, 2011).

El control biológico en un ecosistema diversificado, permite que los enemigos naturales de las poblaciones de insectos fitófagos, sean reducidas, para minimizar el daño a los cultivos de importancia agrícola. El paisaje que rodea a los cultivos es un factor importante que puede influir en el servicio eco-sistémico de control biológico. Varios estudios indican que el control biológico se ve afectado por el entorno del paisaje y la composición de este, perturbando la dispersión de insectos en los campos agrícolas (Bianchi *et al.*, 2006; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011). Estudios de Thies (1999), Bianchi *et al.*, (2006) y Clemente-Orta y Álvarez, (2019) afirman que en paisajes complejos existen plantas que proporcionarían refugio a enemigos naturales, recursos y fuentes alternativas que ayudan a incrementar su población. De esta forma los hábitats seminaturales proporcionan recursos para que los enemigos naturales ejerzan la acción de control biológico y otros insectos también favorezcan la polinización. Estos recursos incluyen el refugio para la hibernación, lugares de cría, alimentos y un entorno protegido de los laboreos agrícolas (Landis *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2006; Holland *et al.*, 2017; Clemente-Orta y Álvarez, 2019).

En Chile el pulgón lanífero del manzano (*Eriosoma lanigerum*) es una plaga importante de este cultivo (Rojas, 2005). Esta plaga forma colonias en raíces, tronco, cuello, ramas y frutos del manzano, causando daño principalmente por la succión de la savia del árbol. Además, el pulgón lanífero del manzano se considera como plaga cuarentenaria en varios países, produciendo rechazos de exportaciones (INIA, 2017). Para realizar el control biológico de esta plaga en 1921 se introdujo en forma exitosa la avispa parasitoide *Aphelinus mali* (Rojas, 2005). Asimismo, existen depredadores de la familia Coccinellidae que actúan como controladores biológicos de *E. lanigerum* (Aguilera, 2013). También se han detectado especies de Syrphidae (Gontijo *et al.*, 2012) y larvas de *Chrysoperla* sp. (Chacón-Fuente *et al.*, 2018) depredando a pulgones. Por consiguiente, los depredadores y parasitoides podrán contribuir al control biológico de *E. lanigerum* en manzano, aportando beneficios económicos a los productores (Cross *et al.*, 2015).

En la siguiente investigación se estudió la abundancia de depredadores (coccinélidos y otros) que se alimentan de *E. lanigerum*, para establecer el efecto del paisaje sobre el control biológico de esta plaga, en cultivos de manzanos de la zona Central de Chile. Se utilizaron técnicas moleculares como análisis de ADN del contenido intestinal de depredadores del pulgón lanífero del manzano para determinar la frecuencia de detección de eventos de alimentación sobre esta plaga, y de interacciones negativas como la depredación intragremio entre enemigos naturales.

A continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente estudio:

1.1 Hipótesis

Los huertos de manzano insertos en paisajes más complejos (mayores porcentajes de área natural) tienen mayor frecuencia de depredación de *Eriosoma lanigerum*, medido como frecuencia de detección molecular intestinal de pulgón lanífero en depredadores generalistas.

1.2 Objetivo general

Determinar la frecuencia de alimentación mediante detección molecular de contenido estomacal de depredadores durante dos periodos estivales en campos de manzanos insertos en una gradiente de complejidad del paisaje en Chile central.

1.2.1 Objetivos específicos

- 1) Determinar la abundancia de enemigos naturales del pulgón lanífero (*E. lanigerum*) en huertos de manzanos insertos en una gradiente de complejidad del paisaje en Chile central.

- 2) Determinar la frecuencia de alimentación mediante detección molecular de contenido estomacal de depredadores en campos de manzanos insertos en una gradiente de complejidad del paisaje en Chile central.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades del manzano

El manzano (*Malus domestica*, Borkh), pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Maloideae. Este cultivo presenta su origen en Asia y Kazakhstan. El manzano es un cultivo que se distribuye ampliamente en el mundo debido a su fácil adaptación en diferentes climas y suelos (Badilla, 2016).

En Chile, el manzano se encuentra distribuido desde Valparaíso a la Araucanía con 32.313 ha en total, entre manzana roja y verde, las que disminuyeron 30.967 en el último censo agropecuario (ODEPA, 2021).

En la actualidad, la región con mayor superficie de manzano es la región del Maule con 16.870 ha de manzana roja y 2.766 ha de manzana verde (ODEPA, 2022). Este cultivo tiene gran importancia a nivel mundial, ya que, junto con el plátano y los cítricos, es uno de los frutos más consumidos. Por ende, la gran diversidad de variedades que existen hace que el consumo de la manzana se lleve a cabo durante todo el año (Badilla, 2016).

Según un estudio realizado por el Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca (Yuri *et al.*, 2020), indica que Chile es un exportador líder en el hemisferio sur e importante exportador de manzanas frescas a nivel mundial, exportando más de 750 mil toneladas en 2019. No obstante, este escenario podría cambiar, ya que este frutal está siendo desplazado por el cerezo, debido a que se ha vuelto más rentable en estos últimos años, y además las condiciones climáticas están siendo cada vez más desfavorables para el cultivo del manzano. Por consiguiente, es afirmado lo anteriormente mencionado, ya que las exportaciones disminuyeron a 636.145 ton para el año 2021 (ASOEX, 2021).

2.2 Plagas del manzano

Las principales plagas que atacan al cultivo del manzano son: polilla de la manzana (*Cydia pomonella*), escama de San José (*Diaspidiotus perniciosus*), pulgón lanígero (*E. lanigera* (Hausmann)), chanchito blanco (*Pseudococcus viburni*), arañita roja europea (*Panonychus ulmi*) y arañita bimaclada (*Tetranychus urticae*) (González, 1989). Sin embargo, el boletín técnico de la Universidad de Talca (2017), señala que existen nuevas plagas emergentes en el manzano,

una de ellas es el Gusano del tebo (*Chilecomadia valdiviana*) (Lepidoptera: Cossidae), que es nativa de Chile. Similarmente, otra especie que desde las temporadas 2015-2016 ha registrado rechazos cuarentenarios en manzano es la polilla de álamo (Leucoptera sinuella) (Lepidoptera: Lyonetiidae).

2.2.1 Pulgón lanígero del manzano (*Eriosoma lanigerum*)

El pulgón lanígero del manzano, *Eriosoma lanigerum*, Hausmman, 1802 (Hemiptera: Aphididae) es nativo de América del norte, donde usa a la especie *Ulmus americana* como huésped primario. Sin embargo, cuando se introdujo el manzano (*Malus domestica*), el pulgón inicio la colonización del manzano como huésped secundario. Luego, esta plaga se adaptó para sobrevivir en el manzano todo el año y se propago en todo el mundo (Gontijo *et al.*, 2012). Actualmente esta plaga presenta una amplia distribución mundial, y en Chile se presenta desde la I a la XI Región (Artigas, 1994).

En nuestro país, los ataques del pulgón lanígero se produjeron antes de 1920, provocando la muerte de árboles de manzanos, ocasionando que muchos productores se inclinaron por cultivar otras especies de frutales que no fueran susceptibles al pulgón lanígero. Sin embargo, en el año 1921 se introdujo un controlador biológico para el pulgón lanígero, la avispa parasitoide *Aphelinus mali*, que en corto tiempo mostró su eficacia en el control de esta plaga (Rojas, 2005).

Los pulgones son insectos de tamaño pequeño de 3 mm de largo, que se alimentan de las plantas con su aparato bucal picador-chupador, succionando de la savia de la planta. Su reproducción es asexual (partenogénesis), donde una hembra de pulgón es capaz de parir individuos vivos sin necesidad de fecundación (Miñarro, 2011; Devotto, 2017). Esta plaga es identificada como plaga primaria en el manzano, produciendo la disminución en la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio en el tejido vegetal, y, por lo tanto, alteraciones en formación de ramas, hojas y frutos, debilitando a la planta (Vigueras, 2016).

La característica distintiva de *E. lanigerum* es que puede formar colonias con gran lanosidad de color blanquecino, esto permite que se puedan alimentar conjuntamente de su hospedero, provocando la deformación de tipo tumorosa en ramillas del árbol (Aguilera y Rebolledo, 2013). La localización de esta plaga es principalmente en colonias bajo el suelo durante el invierno y también en el cuello (produciendo agallas) o bien en grietas profundas en el árbol.

Una de las últimas características de la especie es que posee individuos sin alas (ápteros), y también individuos alados (Devotto, 2017). Luego, al comenzar la primavera suben a través del

árbol, llegando hasta los brotes más nuevos, alimentándose de ellos. Finalmente, en el periodo de crecimiento del fruto se puede producir un daño cosmético ya que, en laboreos del huerto al mover el follaje del árbol se caen las colonias de pulgones sobre el fruto y se adhieren a este produciendo como daño secundario hongos saprófitos que manchan los frutos.

2.3 Manejo integrado de plagas (MIP)

En la actualidad los consumidores y otras organizaciones han adoptado mayor conciencia ambiental, con el fin de contribuir a una producción agrícola que beneficie al medio ambiente y al ecosistema (Ginocchio *et al.*, 2019). Pero, los productores convencionales optan por prácticas agrícolas de rápida acción, como el uso de plaguicidas, puesto que, pueden manejar rápidamente grandes superficies cultivadas. Sin embargo, diversos autores señalan que el uso de los plaguicidas ocasiona graves conflictos socio-ambientales (Souza, 2007; Fortunato, 2015). Además, la aplicación de insecticidas, puede tener un impacto negativo en los enemigos naturales, debido a que los enemigos naturales poseen un menor grado de resistencia a estos productos (Biddinger y Hull 1995; Jonsson, 2012; Krauss, 2011; Markó, 2009, 2017).

Desde hace algunos años se ha promovido el uso de diferentes métodos para el control de plagas, como el control cultural, físico, mecánico, químico, biológico y genético (Jiménez, 2009), que se consolidan y llevan a cabo con el Manejo Integrado de Plagas (MIP), que data desde los años 90', impulsado por la FAO (Huis *et al.*, 1990).

El MIP busca enfocarse en el control de las plagas agrícolas, haciendo que el impacto sobre el medio ambiente sea menor, beneficiando la salud humana. Por consiguiente, mediante el MIP es necesario recurrir a nuevas herramientas, que otorguen un buen manejo de plagas, tales como: prácticas culturales que desfavorezcan la propagación de esta, interviniendo en el manejo ambiental, empleo de especies de cultivos resistentes a las plagas, utilización de control biológico (uso de enemigos naturales para disminuir el umbral de daño de la plaga), monitoreo de plagas y enfermedades. Por último, será necesario recurrir al uso de productos químicos cuando la plaga sobrepase el umbral de daño económico (Beers *et al.*, 1993; Blake *et al.*, 2007; Kennedy, 2008).

2.4 Control biológico (CB) y Control biológico de conservación (CBC)

El control biológico en Chile ha sido desarrollado desde la introducción de la avispa *Aphelinus mali* (Haldeman) (Hymenoptera: Aphelinidae) en control del pulgón lanígero del manzano, en el año 1921, obteniendo un exitoso resultado (Rojas, 2005).

El control biológico es el efecto positivo de los agentes de control biológico sobre las labores humanas, alcanzada por medio de efectos negativos de manera directa o indirecta de estos controladores biológicos sobre las poblaciones de una o varias especies de plagas y/o enfermedades de las plantas (Heimpel y Mills, 2017). Entonces, el objetivo de los enemigos naturales es combatir plagas que ocasionan pérdidas económicas en el nivel de producción de los cultivos.

Según Miñarro y Dapena, (2008) el control biológico se puede llevar a cabo de tres formas; el control biológico clásico, control biológico aumentativo y por último el control biológico de conservación. El control biológico clásico consiste en introducir enemigos naturales exóticos desde el sitio de origen de la plaga. El control biológico aumentativo puede ser inundativo e inoculativo, el primero consiste en proporcionar cantidades elevadas del enemigo natural, mientras que el segundo se basa en introducir cantidades bajas de enemigos naturales, esperando que estas se multipliquen en el cultivo. Por último, el control biológico de conservación consiste en proporcionar refugios naturales para favorecer la acción de enemigos naturales sobre las plagas.

El control biológico de conservación se basa en principios que contribuyen a la preservación de enemigos naturales por medio de conductas que modifiquen el medio ambiente para favorecer la fecundidad, supervivencia y longevidad, facilitando el control biológico (Landis *et al.*, 2000; Begg *et al.*, 2016). Así, el objetivo de este control biológico es reducir aspectos negativos como las prácticas de la intensificación agrícola (arado, quema de rastrojos, aplicación de insecticidas, perturbaciones agrícolas), diversificando el ambiente en paisajes agrícolas y establecimiento de hábitats benéficos (Begg *et al.*, 2016).

Por tanto, variados estudios se enfocan en la entrega de recursos a través de la diversificación de áreas cultivadas, entre ellos, el abastecimiento de la alimentación de enemigos naturales, mediante recursos como azúcar y néctar floral (Wilkinson y Landis, 2005). También, aumentar la diversidad de cultivos en diversas escalas espaciales, provocando un aumento de enemigos naturales (depredadores y parasitoides) y trayendo consigo un ascenso del parasitismo como también la depredación (Chaplin-Kramer *et al.*, 2012).

2.5 Enemigos naturales de *E. lanigerum*

Entre los artrópodos que ejercen su acción como enemigos naturales de los pulgones se encuentran las larvas y adultos de coccinélidos (Coleoptera:Coccinellidae) y de crisopas (Neuroptera:Chrysopidae), larvas de sírfidos (Diptera: Syrphidae), cecidómidos

(Diptera:Cecidomyiidae) y arañas (Araneae), entre otros depredadores, y diversos taxones de parasitoides del orden Hymenoptera (Berta *et al.*, 2002; Miñarro, 2011; Gontijo *et al.*, 2012).

La diferencia entre depredadores y parasitoides radica principalmente en que los depredadores comen y matan a su presa o consumen alguna parte de ella. En cambio, los parasitoides ponen sus huevos dentro del insecto plaga y dan lugar a las larvas que se desarrollan alimentándose del hospedador, causando la muerte del hospedador cuando este emerge del interior del pulgón (Miñarro y Dapena, 2008).

El principal parasitoide que actúa como controlador biológico del pulgón lanífero del manzano es *A. mali*, el cual es una micro-avispa que deposita uno o más huevos en el abdomen del pulgón donde se desarrolla solo una larva del parasitoide. Luego de un tiempo el pulgón muere tornándose de color negro, emergiendo de este un adulto del parasitoide, ocasionado un orificio circular en el dorso de la momia de pulgón (FDF, 2004). Cada hembra de *A. mali* es capaz de parasitar 300 áfidos, los que alrededor de 20 a 25 días estarán como “momias” y se ocasiona la emergencia del parasitoide adulto (Rojas, 2005).

2.5.1 Coccinélidos (Orden: Coleóptera, Familia: Coccinellidae)

Los Coccinélidos pertenecen al orden Coleóptera y son identificados comúnmente por las personas como chinitas, mariquitas, catarinas y muchos otros nombres. Estos son utilizados exitosamente como controladores biológicos, resaltando su importancia económica tanto en Chile como a nivel mundial (Zúñiga, 1985; González, 2008).

En Chile las especies de la familia Coccinellidae son activas depredadoras de áfidos, y también de otros insectos pequeños (Aguilera *et al.*, 1970; González, 2008; Aguilera y Rebolledo, 2013; González, 2019). Aunque, referente a su dieta, en tiempos de escasez de alimentos (áfidos), pueden completar su alimentación con polen, ácaros fitófagos, entre otros.

Según González, (2008) se reconocen a 93 especies de Coccinélidos en Chile. En la actualidad, se informa de 121 especies existentes (González, 2021). Sin embargo, del total de especies descritas, solo un pequeño número se ha reportado alimentándose del pulgón lanífero del manzano, como es el caso de *Coccinella transversoguttata*, *Hippodamia convergens* y *Adalia bipunctata* (Walker, 1985), mientras que otros estudios han registrado a *Eriopis chilensis* y *Adalia angulifera* como depredadores de la misma plaga (Aguilera y Rebolledo, 2013). También se ha observado adultos y larvas de *Eriopis chilensis*, *Adalia deficiens* y *Hippodamia variegata* depredando de forma activa las colonias de la plaga (Rojas, 2005).

2.5.2 Sírvido (Orden: Diptera, Familia: Syrphidae)

La familia Syrphidae incluye a las “moscas de las flores”, ya que los adultos visitan las flores para realizar la polinización. Sin embargo, en estado larval son fitófagas, saprófagas y depredadores de plagas como los pulgones (Pineda y Marcos-García, 2008; González-Moreno *et al.*, 2011; Ricarte *et al.*, 2012). La familia Syrphidae actúa como agente de control biológico de pulgones reduciendo las densidades de las especies plaga (Adams *et al.*, 1987; Vockeroth y Thompson, 1987)

Según un reciente estudio de Barahona-Segovia *et al.*, (2021), afirma que en Chile existen 132 especies de Syrphidae, correspondiente a cuatro subfamilias; Eristalinae, Microdontinae, Pipizinae y Syrphinae, de las cuales existe poca información de la totalidad de las especies que se alimentan de áfidos. Sin embargo, López *et al.*, (2012), descubrieron a la especie *Allograpta pulchra* y *Carposcalis edwardsi* en estadios de larva y pupa en el cultivo de alfalfa en donde se deduce que para realizar su ciclo completo recurren a la alimentación de áfidos en la alfalfa.

Por tanto, a pesar de que existe insuficiente información sobre las familias de Syrphidae que depredan a pulgón lanífero del manzano en Chile, se ha observado en estudios del pasado a ejemplares de *Eupeodes rojasi* (Marnef) controlando al pulgón lanífero del manzano (Thompson, 1999). Mientras que en Estados Unidos se ha encontrado alimentando a especies como *Eupeodes spp.*, *Syrphus opinator* (Osten Sacken) y *Heringia calcarata* (Loew) (Gontijo *et al.*, 2012).

2.5.3 Chrysoperla (Orden: Neuróptera, Familia: Chrysopidae)

La *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae) es un depredador generalista que posee alta efectividad como agente de control biológico tanto como en cultivos de campo abierto como en invernadero (Hagley y Miles, 1987; Menon *et al.*, 2015). Los adultos de esta especie poseen una elevada movilidad y tasa reproductiva (Gamboa *et al.*, 2016), y su preferencia por el alimento se enfoca en miel, polen y agua (Borah *et al.*, 2012; Nadeem *et al.*, 2014).

Otras especies como la *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) y *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) son depredadores generalistas en su estado larval (estado más voraz) presentando una alta movilidad, lo que le facilita el consumo de muchas presas (preferibles el consumo de presas blandas) como el pulgón, mosca blanca, cochinillas, ácaros, trips, huevos de insectos y, también coccinélidos (Souza y Carvalho, 2002; Ulhaq *et al.*, 2006; Sarwar, 2014). Estudios de Chacón-Fuente *et al.*, (2018), han determinado que solo una larva de crisopa consume 200 áfidos en una

semana, por lo cual son importantes para el control de plagas y su afinidad a los cultivos es importante.

Un estudio realizado por Gontijo *et al.*, (2012) se enfocó en encontrar enemigos naturales para el pulgón lanígero del manzano, determinando que Neuróptera fue el tercer grupo de depredadores que se encontraban en mayor abundancia en los huertos de Manzano, mientras que en segundo lugar estaban los Coccinélidos, y en primer lugar los Syrphidae. Las especies más frecuentes que se encontraron eran *Chysopa nigricornis* (Burmeister), *Chrysoperla plorabunda* (Fich) y *Hemerobius sp.*

En síntesis, los neurópteros pueden ser enemigos naturales muy eficientes de la plaga en estudio. En Chile existe muy poca información sobre las especies de crisopas que controlan las plagas. Sin embargo, según Pulgar, (2020), menciona a *Chrysoperla defreitasi* (Brooks, 1994) como la especie más utilizada como depredador por empresas chilenas (Xilema®, BioBee®, Biobichos®, Control best® y Koppert Chile®), dedicadas a proveer de insectos benéficos para la agricultura.

2.6 Incidencia de paisajes simples y complejos en control biológico

El control biológico actúa principalmente cuando existen abundantes enemigos naturales para las plagas. Esta abundancia puede depender de factores ambientales, físicos, mecánicos u otros, donde estarán sujetos al agro-ecosistema que rodea el lugar del establecimiento de los cultivos. También, el laboreo de suelos e intervención del ser humano influirá en el control biológico de depredadores y/o parasitoides que desean cumplir su rol biológico, a su vez, afectando a la biodiversidad de especies.

Entre los factores negativos que afectan a la biodiversidad se han interconectado con el cambio de uso de suelo, la dispersión e introducción de especies exóticas invasoras, el desarrollo intensivo de los sectores productivos primarios, los incendios forestales y el cambio climático global (Ginocchio *et al.*, 2019). Otro estudio señala que alusivo al cambio de los agro-ecosistemas, la intensificación agrícola, los monocultivos, el uso continuo uso de productos fitosanitarios y la fragmentación de los hábitats naturales, ha concluido en la pérdida de uno de los servicios eco-sistémicos más importantes para la producción agrícola: el control biológico (Clemente-Orta y Álvarez, 2019).

Por otro lado, referente a la composición del paisaje, algunos resultados de la expansión e intensificación agrícola han ocasionado la simplificación de este con pérdida de biodiversidad a

costa de los ecosistemas naturales, resultando en pequeños fragmentos de hábitat naturales (Bianchi *et al.*, 2006; Landis, 2017). Por lo cual, la composición del paisaje también desempeña un papel crucial en la determinación de la dispersión de insectos en los paisajes agrícolas (Bianchi *et al.*, 2006; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011).

Estudios, han determinado que en paisajes complejos que poseen elevados porcentajes de hábitat natural y altos índices de diversidad, proporcionan fuentes alternativas y refugios para la supervivencia de los enemigos naturales, incluyendo plantas banqueras que otorgan refugio y un incremento en poblaciones de enemigos naturales (Thies, 1999; Bianchi *et al.*, 2006; Clemente-Orta y Álvarez, 2019). En resumen, la abundancia y la diversidad de los enemigos naturales tenderá a aumentar en los paisajes complejos, aunque dependerá de la abundancia vegetal diversificada al interior y entorno de los cultivos (Landis *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2006; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011).

2.7 Depredación intragremio (DIG) y depredación intragremio coincidente (DIGc)

Existen interacciones negativas, que ocasionan una competencia y depredación entre los enemigos naturales de las plagas, como por ejemplo la depredación intragremio, el hiperparasitismo facultativo o la interferencia de comportamiento, pueden tener efectos negativos en la supresión de plagas (Letourneau *et al.*, 2009).

La depredación intragremio (DIG) se produce cuando dos especies de depredadores existentes, competirán por una misma presa, alimentándose al mismo tiempo de su competidor (Rosenheim *et al.*, 1993; Müller and Brodeur 2002), mientras que referido a los coccinélidos la DIG se determina como el consumo de otra especie de coccinélido en estadios de huevos, larvas o adultos.

Por su parte, la depredación intragremio coincidente (DIG-C) existe cuando se ingiere un áfido que ya se encuentra parasitado (Traugott *et al.*, 2012; Ortiz-Martínez *et al.*, 2019). Sin embargo, referente a DIG-C, son bajas las posibilidades de que los depredadores generalistas presenten una alimentación aleatoria de sus presas (Agusti *et al.*, 2003; Juen and Traugott, 2007). Ya que, si los depredadores eligiesen a sus presas, la interacción entre el parasitoide y el pulgón se verían alteradas (Traugott *et al.*, 2012).

2.8 Análisis moleculares

Frecuentemente es necesaria la utilización de métodos moleculares para estudiar las interacciones entre depredadores y sus presas, puesto que mediciones directamente en el campo como observación directa pueden resultar poco efectivas, ya que los depredadores son pequeños y también crípticos (Gómez, 2014). De esta forma se han desarrollado métodos de identificación de ADN y análisis del contenido intestinal de depredadores, los cuales son aplicados tanto con el fin de detectar ADN de la presa ingerida por el depredador, determinando la eficacia de depredación y la potencial acción del control biológico (Harwood and Obrycki, 2005; Sheppard and Harwood, 2005; Garipey *et al.*, 2007; Symondson y Harwood, 2014; Ortiz-Martínez *et al.*, 2019).

De esta forma se utilizó el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se divide en PCR simple y PCR múltiple. En la primera se utilizan pares de cebadores que amplifiquen un fragmento específico, mientras que la PCR multiplex se utilizan más de un par de cebadores para amplificar conjuntamente en una misma reacción varios fragmentos de ADN (Traugott *et al.*, 2013).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del ensayo

La zona de estudio se ubicó entre las Regiones de O'Higgins y del Maule. Basado en un análisis previo del paisaje se generaron tres cuadrantes que corresponden a las comunas de Codegua, Chimbarongo y Molina respectivamente. En cada cuadrante se calificaron a los campos en tres categorías según su porcentaje de área natural y semi-natural (ASN) circundante a 1 km a la redonda (incluyendo cultivos perennes, anuales y construcciones). De este modo los campos seleccionados constituyen una gradiente de complejidad del paisaje.

El entorno a los campos seleccionados presentaba porcentajes de área natural y semi-natural que abarcaron desde los 9% hasta un 79% de ASN basado en el mapa de cobertura de Suelos de Chile 2014 (Zhao *et al.*, 2016; Hernández *et al.*, 2016).

3.1.1 Diseño experimental

Para la categorización de los huertos de manzano y determinación de la complejidad del paisaje, se utilizaron gradientes desde campos rodeados en la mayoría por explotaciones agrícolas a campos rodeados por vegetación natural. Los huertos fueron divididos en tres cuadrantes geográficos en el Valle Central; el cuadrante N°1 corresponde a huertos agrícolas establecidos en la provincia de San Fernando, el cuadrante N°2 a predios ubicados en la comuna de Romeral, y finalmente el cuadrante N°3 a predios ubicados en la comuna de Molina. A su vez, cada cuadrante se subdividió en tres categorías basado en el porcentaje de vegetación natural que lo rodeaba, siendo la categoría 1 campos rodeados por porcentajes de vegetación natural que van desde 0-35%, categoría 2 entre 35-70%, y la categoría 3 que corresponde a campos rodeados por más de 70% de vegetación natural.

Por consiguiente, el área que se consideró para estimar los porcentajes de vegetación natural estuvo basada en un buffer de 1 km de diámetro alrededor del punto de muestreo dentro de cada predio.

3.1.2 Especificación de la composición del paisaje en torno a los campos de estudio

Los huertos seleccionados estaban aledaños a parches de cultivos permanentes y/o anuales, como también presencia de ambientes naturales y elementos fabricados, como lo son construcciones.

Cada campo se geo-referenció y los datos fueron almacenados en el software QGIS. Este software es un sistema de información geográfica para la obtención y análisis de datos geoespaciales, definiéndose como el conjunto de datos, metodologías, hardware, entre otros, que hacen posible el análisis de datos geográficos (Duarte *et al.*, 2021).

Se utilizaron mapas de Google Earth y se estudiaron buffers de 1000 m de diámetro alrededor de los campos seleccionados. También se dibujó cada campo, calculando el centroide para cada uno de estos. Finalmente, con las visitas que se sostuvieron en terreno se complementó la información de las fotos satelitales (obtenidas de Google Earth) del entorno a los campos.

A continuación, se muestra la clasificación de los parches y matriz del paisaje, que se clasificaron en las siguientes categorías:

a) Semi-natural: a toda aquella superficie que presentará frutales, cultivos permanentes, praderas naturales, bosques, bordes, ríos, cerros y áreas sin cultivar.

b) Cultivos anuales: a toda zona que posee cultivos anuales, correspondiendo a trigo, papa y leguminosas.

c) Construcción: a todo lugar que presente alguna estructura artificial, como casas, galpones, edificios, etc.



Figura 1. Mapa de QGIS incluyendo al cuadrante N° 1. *Cat: categoría, que es el porcentaje de vegetación natural que rodea el huerto, *Cuadrante 1: campos pertenecientes a la provincia de San Fernando, *Campo de recolección (toma de muestras).

3.1.3 Evaluaciones en el campo

Las evaluaciones se llevaron a cabo en la zona centro-sur de Chile, época de primavera (septiembre-diciembre), dado que emergen las primeras hembras ápteras del pulgón lanífero del manzano, que han invernado en las grietas de la planta, corteza o en el cuello del árbol (Brown *et al.*, 1994). Puesto que las poblaciones de la plaga continúan activas hasta el otoño, se tomó muestras en intervalos de 7 días de los depredadores en el mes de diciembre y marzo de la temporada 2020-2021. Además, la abundancia de coccinélidos se incrementa desde diciembre, produciéndose los máximos en los meses de febrero y marzo (Peñalver-Cruz *et al.*, 2019). Las evaluaciones se basaron en la colecta de coccinélidos, pero también larvas de sírfidos (Diptera: Syrphidae), y otros depredadores secundarios que se encontraron.

3.2 Colecta directa de las muestras

Los métodos que se requirieron para recolectar depredadores fueron de colecta directa. Esta consistió en colectar de forma activa a los insectos con ayuda de instrumentos o herramientas (Márquez, 2005). Por lo tanto, para obtener la abundancia de depredadores del pulgón lanífero

del manzano se requirió de la colecta manual y búsqueda de depredadores aledaños a las colonias de pulgón lanígero del manzano.

3.2.1 Colecta de depredadores de *E. lanigerum*

En primera instancia, en cada huerto se seleccionaron 10 árboles al azar, y de cada árbol un total de 10 brotes. Luego se observó la presencia de coccinélidos que pudieran estar alimentándose en la colonia de la plaga o cercanos a ella, en el árbol. Una vez identificado los depredadores en las partes mencionadas del árbol, se realizó la recolección manual de estos usando bandejas entomológicas. Luego, se introdujo la muestra, con la ayuda de un pincel en tubos de centrifuga tipo Eppendorf, estériles y secos de 1,5 ml a temperatura de 0°C (en cooler), durante 6-7 horas antes de ser ingresados a -80°C. Luego cada muestra se identificó morfológicamente, se contabilizaron las especies recolectadas y finalmente se sometieron a análisis molecular.

3.3 Identificación de especies

Este proceso se llevó a cabo en el laboratorio de Control Biológico, del Instituto de Ciencias Biológicas (ICB), perteneciente a la Universidad de Talca. Acá se determinó la abundancia y especie de enemigos naturales del pulgón lanígero del manzano y también, la frecuencia de alimentación mediante detección molecular de contenido estomacal de depredadores.

Cada muestra de campo fue lavada con solución de cloro al 10% y luego limpiada con agua destilada con la ayuda de una micro pipeta. Este proceso de lavado fue realizado para evitar contaminación de otras presas en la superficie de cada insecto.

Posteriormente, se realizó la identificación de las muestras. Este proceso se dividió en dos partes, en muestras identificadas y no identificadas. Primeramente, las muestras que se identificaron taxonómicamente fueron las de estado adulto de (Coleoptera:Coccinellidae), mediante el uso de lupa estereoscópica, con la ayuda de claves a nivel de especie establecidas por González (2006). Mientras que, las muestras que no eran identificadas taxonómicamente a nivel de especie, como larvas de Diptera:Syrphidae y de Neuroptera:Chrysopidae, se sometieron a un corte de pata o sección lateral del cuerpo, mediante el uso de bisturí estéril. De ahí, a partir de cada una de las muestras (cuerpos completos y patas, sección lateral del cuerpo) se realizó la extracción de DNA, utilizando "Cell and tissue DNA isolation Kit" (Norgen Biotek Corp, Ontario, Canadá).

Las muestras que no fueron identificadas taxonómicamente (larvas de dípteros y crisopas), fueron sometidas a la técnica de barcoding, para lo cual se realizó un PCR para amplificar la región conservada de la citocromo oxidasa I (COI), utilizando los partidores LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' y HCO2198 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' (Folmer *et al.*, 1994). La verificación de la amplificación fue realizada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% en Buffer TAE 1X en un campo eléctrico de 100 V durante 1 hora. Luego, los productos de PCR fueron enviados a MACROGEN Corea, para su secuenciación. La secuencia resultante fue sometida a análisis de bioinformática utilizando las bases de datos GenBank y Barcode of Life Data Base (BOLD), para determinar con un grado de certeza los géneros de los insectos recolectados y posiblemente las especies, si existiera la información.

3.4 Análisis molecular de dietas

Una vez que identificamos todas las muestras, se procedió a la utilización de una PCR múltiple diagnóstico, administrando pares de cebadores específicos de especie y de grupo en estudio (Cuadro 1), modificada de Ortiz-Martínez *et al.*, 2019. De tal manera que se organizaron en dos multiplex; A y B, según el tamaño de los productos de PCR.

Para descubrir las interacciones entre especies, se utilizó PCR múltiple con el KIT "Multiplex PCR kit" (Qiagen, Hilden, Alemania) y luego se posiciono la placa con las muestras en el termociclador.

El programa empleado fue el siguiente:

- 1 ciclo de desnaturalización a 95°C por 15 min
- 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 seg; annealing 62°C (columna 1-6), 65°C (columna 7-12) por 90 seg; extensión a 72°C 90 seg por kb
- 1 ciclo de extensión final a 72°C por 10 minutos

Por tanto, en el estudio que se realizó se basó en técnicas moleculares de King *et al.*, 2008 y Staudacher *et al.*, 2015, con modificaciones para el grupo de enemigos naturales en Chile por Ortiz-Martínez *et al.*, 2019. En conclusión, se utilizó el PCR simple, primero para identificar la especie depredadora del pulgón lanígero del manzano y luego la aplicación de la PCR múltiple que identificó en el intestino del depredador la presa que este ingirió.

Cuadro 1: Pares de partidores específicos de grupo y de especie con sus respectivas características.

	Especie objetivo y /o cebadores	Nombre del primer	Secuencia de cebadores 5'-3'	Longitud del fragmento	Fuente	
Mix A	<i>Crisoperla</i>	S417	CTGTGTCCTACACTGTT GGTTCAAT	390	Staudacher et al., 2016	
		A420	AATGCCCCCATCTGTCC G			
	<i>Harmonia axyridis</i>	H.axy. S330		CTTTAACTCTTTTAATT TTAAGAACAATC	289	Ortiz-Martínez et al., 2019
			H.axy. A571	CCTGCAAGAACTGGT AGTGATAGT		
	<i>Eriopsis connexa</i>	E.con- S108		AATTCGAATAGAATTA GGAACAACATAAT	342	Ortiz-Martínez et al., 2019
			E.con- A400	AGTCTAAAAATTACTA AATCTACTGAAGGA		
	Aphid1 y 2	S423		TGGTTCCTTAGATCGTA CCCAAG	148/205	Staudacher et al., 2016
		A424		GCCGCGACGGGCC		
		S421		ATGTCTCAGTGCAAGC CGC		
	Mix B	Dípteros 1 y 2	S414	CCTATCAACTATTGATG GTAGTRTCKWGGA	351/353	Staudacher et al., 2016
A416			GAAGCACAARWTCAAT WCGAACG			
S413			TCAAATGTCTGCCCTAT CAACTWTT			
<i>Hipodamia convergens</i>		H. con- S382		AACTGTTTACCCTCCT TTATCTTCA	168	Ortiz-Martínez et al., 2019
			H.con- A499	GGGGTTTTATCTAATC TCATACCATAG		
<i>Aphelinus mali</i>		A.mali F1		CGTTTAGAATTAGGGAA TCCTGG	264	Laboratorio de control biológico (No publicados)
		A.mali R1		ACCTGTCCCAGTACCA ATTCC		
<i>Hipodamia variegata</i>		H.var- S311		CCCCTGCCTTAACCCTT CTAT	367	Ortiz-Martínez et al., 2019

*aphis 1 y aphis 2: cebadores que detectan áfidos. *dípteros 1 y 2: cebadores que detectan dípteros.

3.4.1 Análisis de dietas por la técnica de electroforesis

Este proceso se llevó a cabo luego de la realización de la PCR múltiple, entonces al retirar las muestras del termociclador se procedió al análisis de ellas mediante el proceso de electroforesis (separación de moléculas en un campo eléctrico), en gel de agarosa al 3% en Buffer TAE 1X en un campo de 120V durante 3 horas, y en algunos casos hasta 3,5 horas. Cada gel contuvo 30 a 60 muestras, las cuales luego de 3 horas se retiraron del gel y se posicionaron en transiluminador, para la lectura del gel de agarosa con luz ultravioleta mediante fotografía.

El transiluminador se conectó a un computador, donde se obtuvo la fotografía con las ampliaciones (producto de PCR de cada muestra que amplificó) de la dieta de cada depredador, entonces se identificó cada una de las presas que este ingirió.

A continuación, se muestra la fotografía de un gel de agarosa al 3% a 120v durante 3,5 horas:

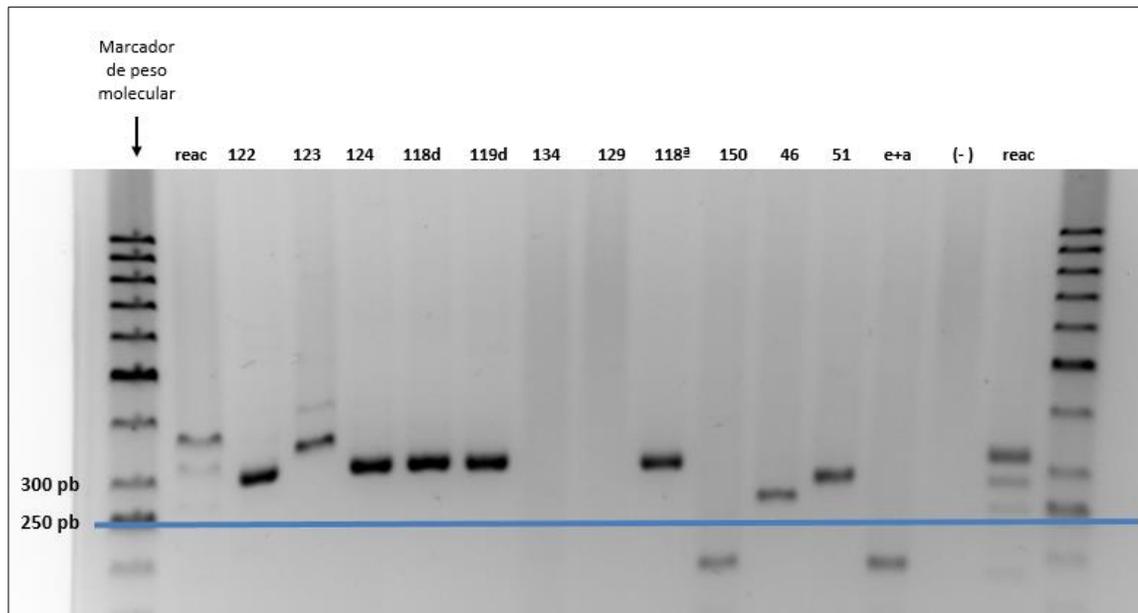


Figura 2. Bandas amplificadas en mix A de *Chrysoperla* sp. En la fotografía anterior se observó la amplificación de las bandas correspondientes a la especie *Chrysoperla* sp. (122-124-118d-119d), y partidores de otras especies *H. axyridis* (46), *E. chilensis* (51), *Afidos* (150) y *Chrysoperla* sp. (118a)), obtenidos a través de PCR mutiple. * Reac: conjunto de primer señalados anteriormente. *134 y 129: muestra no reconocida como *Chrysoperla* sp. *(-): control negativo. *pb: pares de bases. * Marcador de peso molecular: moléculas de ADN o proteínas de tamaño conocido.

3.5 Frecuencia de depredación de *E. lanigerum*

La frecuencia de depredación se obtuvo a partir de 9 campos en estudio, ya que de los 13 campos que se establecieron inicialmente no todos poseían depredadores. Por ejemplo, en cada campo se capturó de 0 a 13 depredadores (no había en todos los campos), incluyendo ambos números. Luego para establecer la frecuencia de depredación por campo, se contabilizaron los individuos que consumieron pulgón lanígero del manzano (mediante la lectura del gel de agarosa), luego se dividió por los depredadores totales de cada campo. Por último, se presentaron resultados mediante gráficos de dispersión.

3.6 Frecuencia de depredación intragremio (DIG)

Se observó, si existió una interacción negativa entre especies de controladores biológicos, mediante la frecuencia de DIG. Esta se estimó con el número de especies que poseían al menos un ADN diferente del pulgón lanígero del manzano en su dieta, dividido por el total de depredadores colectados en cada campo. Por consiguiente, fue necesario de análisis visual, mediante lectura de geles de agarosa.

Luego se realizó un gráfico para verificar la proporción de DIG que correspondía a cada campo. Además, se incluyó el número de depredadores por campo, ya que los depredadores recolectados por campo fueron muy escasos.

3.7 Depredación intragremio coincidente (DIGc).

Se observó el gel de agarosa al 3%. Acá se contabilizaron las señales de amplificación de cada depredador, que señaló el consumo de *A. mali* en la dieta estomacal. Por consiguiente, para obtener la proporción de DIGc se estableció una relación entre: los depredadores que consumieron *A. mali* con el número total de depredadores por campo. Luego, se estableció si existió o no correlación con él %ASN.

3.8 Proporción de parasitismo

Los datos fueron extraídos de la memoria de título de Salgado, (2021), acá se contabilizó los brotes que se encontraban parasitados, estableciendo la cantidad de momias (pulgón muerto que presentaba un agujero donde emergió el parasitoide) que existían por colonia, en relación a los pulgones que se encontraban vivos, generando la tasa de parasitismo por campo.

Luego se procedió a comparar con los resultados de proporción del pulgón lanífero del manzano que se obtuvieron en este estudio, observando si existió alguna correlación de estos datos con el % ASN por campo.

3.9 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico R v3.4 (R Core Team 2015). Se llevó a cabo el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman según la distribución de normalidad de las siguientes variables: frecuencia de depredación de *E. lanigerum*, frecuencia de depredación intragremio (DIG), frecuencia de depredación intragremio coincidente (DIG-c) y proporción de parasitismo. Con el fin de establecer la correlación con el porcentaje de área natural y semi-natural que presentaban los campos de manzano. Entonces, se verificaron los supuestos de normalidad, de no haber normalidad se usó una correlación de Spearman y de encontrar normalidad se usó la correlación de Pearson.

Por otro lado, referente a la dieta de depredadores del pulgón lanífero del manzano, se detectó con el ADN restante en el estómago de cada depredador mediante PCR. Por consiguiente, se seleccionó el depredador que consumió mayor cantidad de especies diferentes, por categoría.

4. RESULTADOS

4.1 Abundancia de enemigos naturales del pulgón lanífero del manzano

Se recolectaron 52 enemigos naturales del pulgón lanífero del manzano. De los cuales 24 correspondían a coccinélidos adultos, entre los que destacan las especies *H. variegata*, *H. axyridis*, *E. chilensis* y *A. angulifera*. Mientras que en relación a otras especies en estado larval se recolectaron 28 individuos, donde 5 correspondieron a la especie de *Chrysoperla* sp. y 23 individuos a *E. rojasi*. Además, separados por categoría se observan en figura N°3.

Referente a la relación entre diversidad de especies de depredadores y el porcentaje de ASN, se encontró 5 especies diferentes tanto en categoría 1 (0-35 %ASN) como la categoría a 2 (35-70% ASN), mientras que la categoría 3 (70-100 %ASN) solo presentó 4 especies de depredadores. Aunque, esto puede tener relación con el número de campos de recolección, ya que categoría 1 (4 campos), en categoría 2 (3 campos) y en categoría 3 (2 campos).

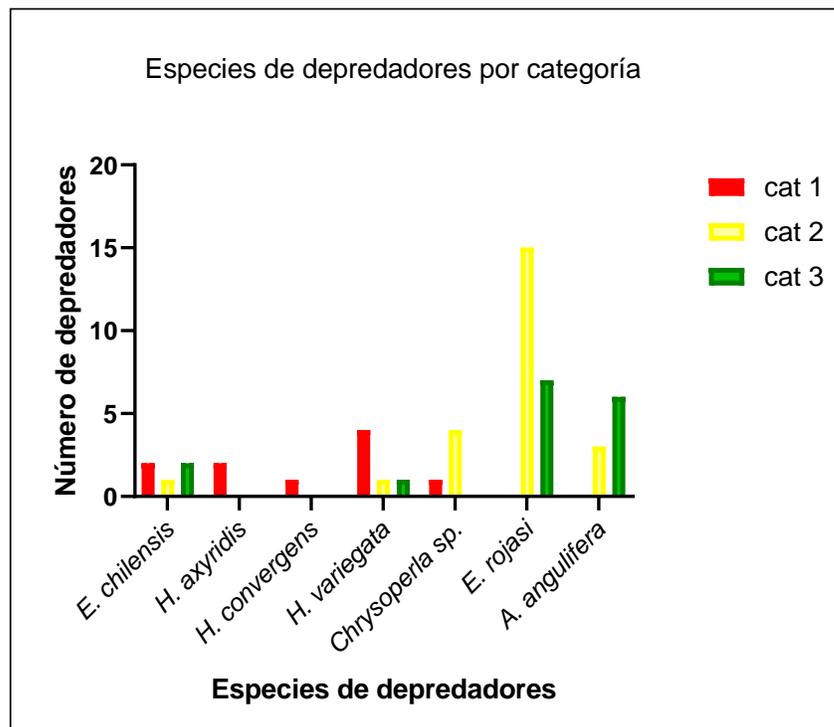


Figura 3. Especies y número de depredadores recolectados por categoría.

4.2 Relación entre la complejidad del paisaje y el control biológico

De las 52 especies de depredadores recolectados en los 9 campos de manzano, se muestran las dietas de la especie más abundante (“n”) (número de depredadores) por categoría. (ver figura N° 4, 5 y 6).

Para la categoría 1 se observaron 2 especies de depredadores más frecuentes; *H. variegata* (4), *H. axyridis* (2). La primera especie presentó en su dieta *H. axyridis* y *E. lanigerum* (ver figura N° 4). Sin embargo, el segundo depredador más frecuente (*H. axyridis*) solo presentó 1 especie en su dieta, que fue *E. lanigerum*.

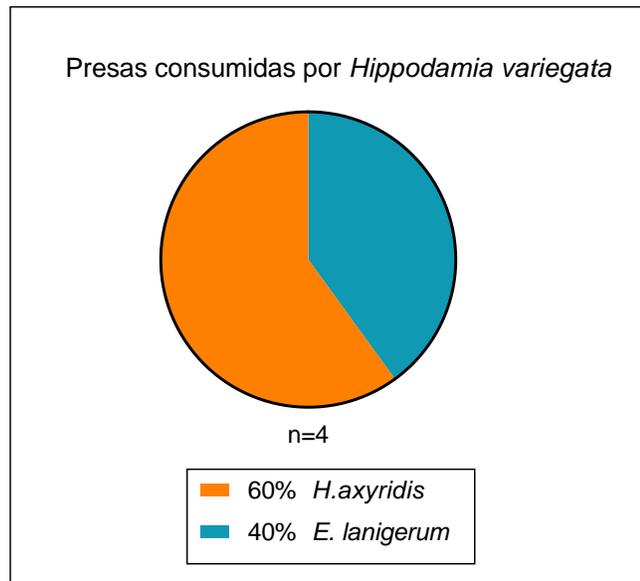


Figura 4. Depredador *H. variegata* que consumió solo dos especies de presas en categoría 1 (0-35% ASN). *n: número de depredadores de *H. variegata* en categoría 1.

Relativo a la categoría 2 se encontró 4 depredadores con mayor frecuencia: *E. rojasi* (15), *Chrysoperla* sp. (4), *A. angulifera* (3) y *H. variegata* (2). *E. rojasi* consumió 4 presas diferentes (ver figura N°5). El segundo depredador que consumió 3 presas fue *A. angulifera*; *E. lanigerum* (40%), *A. mali* (40%) y *H. variegata* (20%). Por último, el tercer depredador *H. variegata* se alimentó del pulgón lanífero del manzano (50%) y *H. axyridis* (50%).

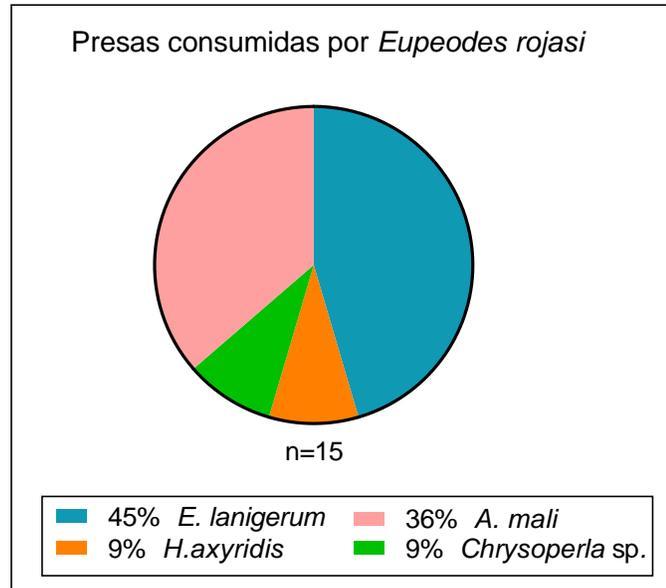


Figura 5. Depredador *E. rojasi* que consumió cuatro especies de presas en categoría 2 (35-70% ASN). *n: número de depredadores de larvas de *E. rojasi* en categoría 2.

Finalmente, en relación a la categoría 3 se observaron 3 depredadores con mayor frecuencia. *E. rojasi* (7), *A. angulifera* (6) y *E. chilensis* (2). El depredador que consumió más presas fue *A. angulifera* (ver figura N°6). El siguiente depredador que tenía en su dieta 2 presas fue *E. chilensis*, *E. lanigerum* (50%) y *A. mali* (50%). Mientras que de los 7 ejemplares de larvas de *E. rojasi*, solo 1 larva presento en su dieta ADN de *A. mali*.

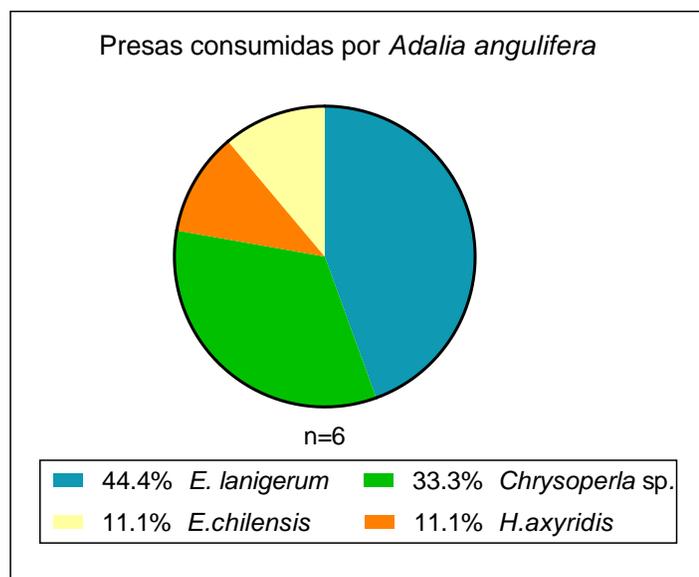


Figura 6. Depredador en estado adulto de *A. angulifera*, que se alimentó de cuatro especies de presas en categoría 3 (70-100% ASN). *n: número de depredadores de *A. angulifera* en categoría 3.

4.3 Frecuencia de depredación de *Eriosoma lanigerum*

Se analizó la cantidad de pulgón lanífero del manzano consumido por especie de depredador, en total se registraron 13 campos de manzano, en los que solo 9 (Casa montecillo, Cristian Osorio, El Carrizal, Claudio Salgado, El Peumal, San Jorge, Santa Bárbara, Callejón Ortuzar y Teno Santa María) presentaron depredadores. De todas las muestras recolectadas, la mayor cantidad de los depredadores correspondían a estado larval, que se encontraban forrajeando sobre colonias de pulgón lanífero del manzano, mientras que depredadores en estado adulto se capturaron alrededor del árbol o cercanos a la colonia de pulgón. Del total de las muestras, solo 19 depredadores habían consumido a la plaga, 13 correspondían a coccinélidos adultos (68%), mientras que, solo 6 individuos pertenecían a larvas (32%).

La media de la proporción de depredadores con evidencia de depredación de pulgón lanífero del manzano por campo se estableció en 36%. Luego se visualizó la proporción de *E. lanigerum* en relación al %ASN (ver en figura N°7).

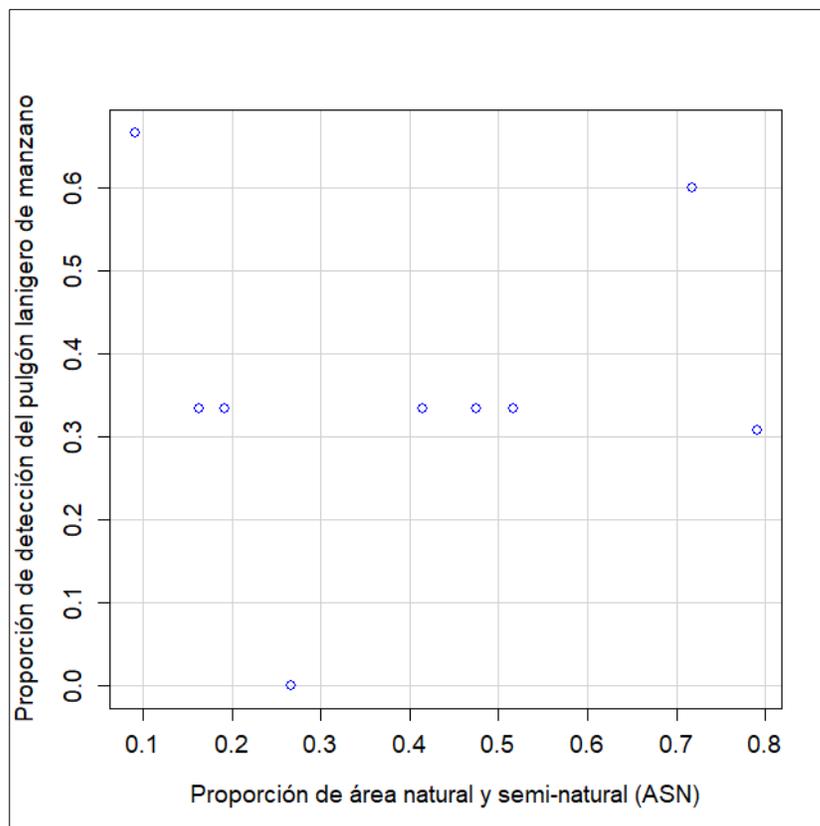


Figura 7: Proporción de detección de *E. lanigerum* en relación a la proporción de área natural y semi-natural (ASN) por campo.

Se realizó una prueba de correlación de Spearman entre proporción de detección de *E. lanigerum* y proporción de ASN, en el que arrojó una correlación no significativa ($P=0,47$) indicando que no existe una relación entre proporción de ASN y proporción de detección de *E. lanigerum*.

4.4 Frecuencia de depredación intragremio (DIG)

La proporción de depredación intragremio (DIG) por campo varió entre 0 y 1, mientras que el promedio de porcentaje de DIG obtenidos por campo fue 38% del DIG. Además, se observó una correlación no significativa ($P= 0,67$), indicando que no existe correlación entre las dos variables.

A continuación, se presentó la proporción de DIG en relación al porcentaje de ASN por campo.

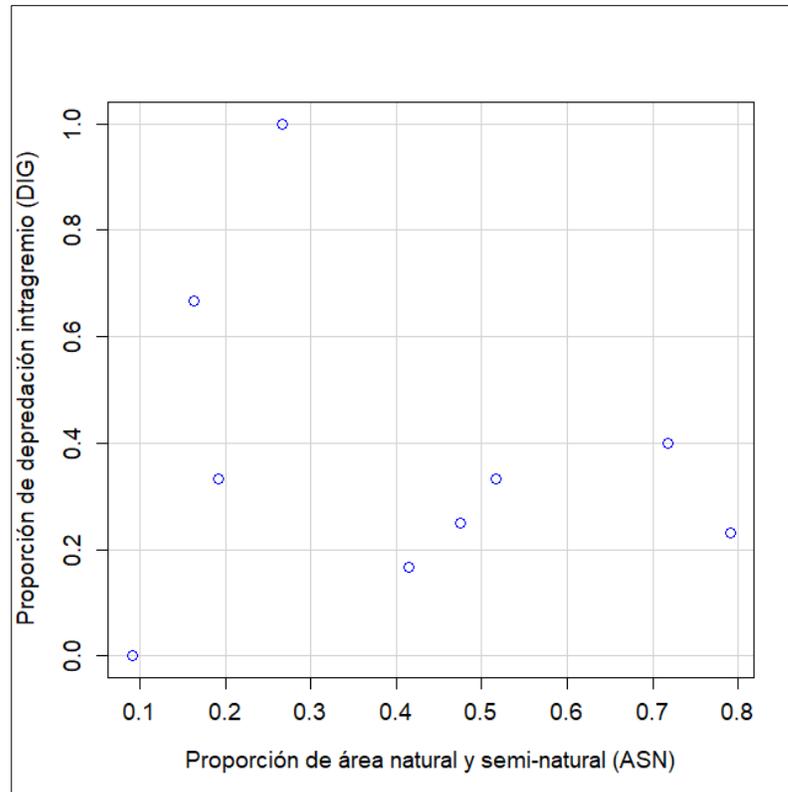


Figura 8: Frecuencia de depredación intragremio (DIG) en relación a la proporción de ASN por campo.

*DIG (n° de especies encontradas en el intestino de los depredadores con al menos una especie diferente de *E. lanigerum*).

Cuadro 2: Datos relevantes de cada campo, ordenados por categoría.

Campo	Categoría	%ASN	N° depredadores colectados	Frecuencia de <i>E. lanigerum</i> en dieta	%DIG
Claudio Salgado	1	9	3	0,67	0
Cristian Osorio	1	16	3	0,33	67
San Jorge	1	19	3	0,33	33
Santa Barbara	1	27	1	0	100
El carrizal	2	52	6	0,33	33
El Peumal	2	47	12	0,33	25
Teno Sta. María	2	41	6	0,33	17
Casas montecillo	3	72	5	0,6	40
Callejón Ortuzar	3	79	13	0,31	23

Del siguiente cuadro se puede visualizar el escaso número de depredadores obtenidos por cada campo, especialmente en campos pertenecientes a categoría 1. Además, fue en la misma categoría donde se observó el mayor porcentaje de DIG, a excepción del campo Claudio Salgado donde la DIG fue cero, claramente por el menor número de muestras recolectadas.

4.5 Depredación intragremio coincidente (DIGc)

Solo 11 depredadores del total de 52 muestras recolectadas en los 9 campos de manzano, presentaron ADN del parasitoide en su dieta. No obstante, de esos 11 depredadores, 4 correspondieron a coccinélidos adultos, 5 ejemplares a larvas de *E. rojasi* y 2 ejemplares de larva de *Chrysoperla* sp. De esos 11 depredadores solo 4 de ellos poseían en su dieta tanto a *E. lanigerum* como *A. mali*, mientras que en los 7 ejemplares restantes solo presentaron *A. mali* y no a *E. lanigerum* en su dieta.

El promedio de DIGc por campo fue solo de un 27%. La correlación entre proporción ASN y proporción DIGc no fue significativa ($P=0,14$), lo que indicaría que no existe una relación entre las variables. Estos datos fueron visualizados con un gráfico de dispersión, donde se observó que los 3 campos correspondientes a categoría 2 se dispusieron entre 0,2 a 0,4 de proporción de DIGc. Por consiguiente, según la proporción de área natural y semi-natural que se observan en el gráfico, fue en la categoría 2 (35-70% de ASN) que presentó DIGc más homogéneo (Figura N°9).

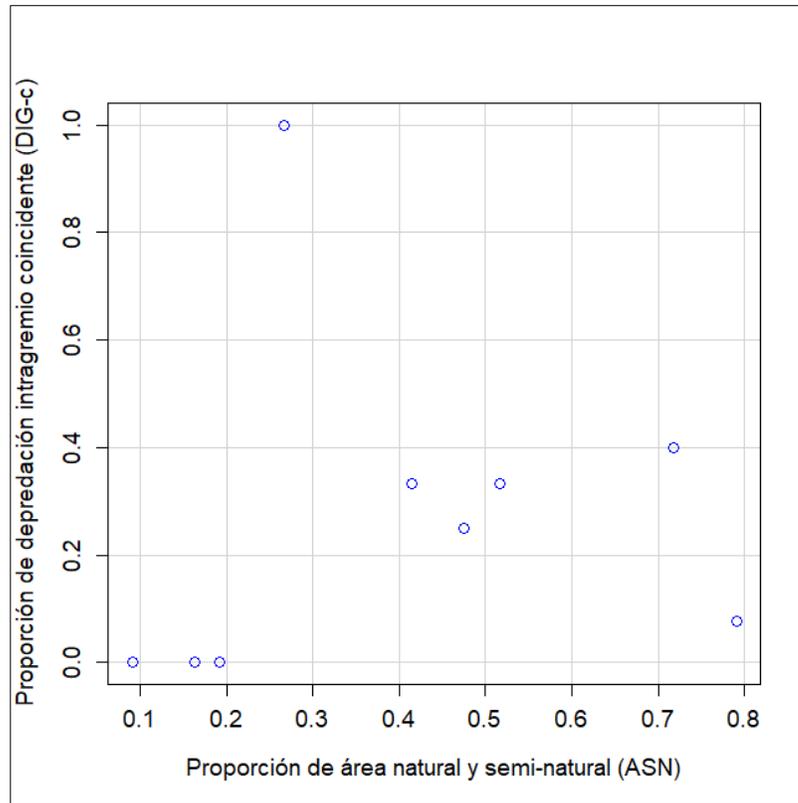


Figura 9. Gráfico de dispersión según la proporción de proporción de ASN y proporción de individuos que presentaron ADN de parasitoide en su dieta (proporción DIGc).

4.6 Proporción de parasitismo

Se realizó la correlación de Spearman, para observar si existe una relación entre proporción de parasitismo y proporción de pulgón lanígero del manzano, en el cual se obtuvo una correlación no significativa ($P= 0.61$).

Por otro lado, referente a la proporción de parasitismo se observó que existe una pequeña compatibilidad a favor de los contextos paisajísticos en categoría 1 y 3, puesto que los campos presentaban baja proporción de *E. lanigerum*, y un leve incremento a la proporción de parasitismo. De forma diferente, en categoría 2 la proporción entre *E. lanigerum* y parasitismo fue menor en relación a las otras categorías y solo un campo fue la excepción en esta categoría.

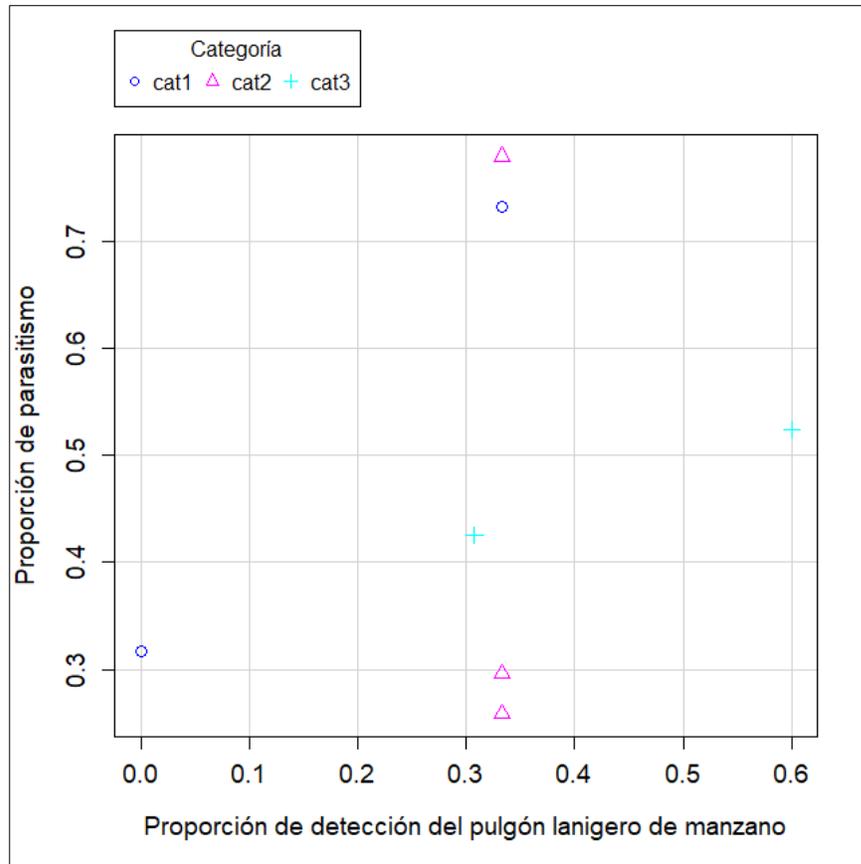


Figura 10. Gráfico de dispersión entre proporción de *E. lanigerum* y proporción de parasitismo por categoría.

5. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio, fue determinar la frecuencia de alimentación mediante detección molecular de contenido estomacal de depredadores durante dos periodos estivales en campos de manzanos insertos en una gradiente de complejidad del paisaje en Chile central. No obstante, se unieron las muestras recolectadas de las dos épocas estivales (diciembre y marzo), pues las muestras recolectadas durante el mes de diciembre fueron muy pocas.

En la actualidad diversos estudios se enfocan en la implicancia de contextos paisajísticos y otros factores externos que influyen sobre el comportamiento de enemigos naturales (Lavandero *et al.*, 2008; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011; Jonsson *et al.*, 2012; Ortiz- Martinez *et al.*, 2019; Salgado, 2021). Por consiguiente, esta tesis se enfocó en la búsqueda de los efectos ocasionados en el control biológico, diversidad y abundancia de depredadores, como también las interacciones negativas en 3 contextos paisajísticos diferentes, mediante el análisis intestinal de depredadores.

Primeramente, cabe señalar que en literatura en relación a la abundancia de enemigos naturales mencionan que en paisajes complejos se incrementa de forma positiva la abundancia de enemigos naturales (Gardiner *et al.*, 2009; Chaplin-Kramer *et al.*, 2011; Woltz *et al.*, 2012; Chaplin-Kramer *et al.*, 2013). Sin embargo, los campos que correspondían a la categoría 3 (paisajes complejos), presentaron 18 depredadores, mientras que en categoría 2 y 1 se encontraron 24 y 10 individuos, respectivamente. Las pocas especies encontradas en los contextos paisajísticos en este estudio contradicen muchas investigaciones de abundancia de enemigos naturales. Pero, los datos obtenidos en este ensayo son limitados entonces no se puede estimar la relación entre paisajes complejos y número de depredadores. De igual forma se puede indicar que la deficiencia de depredadores puede estar siendo ocasionada por la intensificación agrícola, ya que Bianchi *et al.*, (2006), reporta que la intensificación agrícola ha provocado cambios en los paisajes agrícolas, pudiendo interferir en recursos otorgados como por ejemplo el alimento de los depredadores. Por tanto, el factor de intensificación agrícola puede tener relación con la abundancia de depredadores (Trichard *et al.*, 2013).

Por otra parte, referido a las especies de enemigos naturales encontrados en los huertos de manzano, fueron: *E. rojasi*, *A. angulifera*, *E. chilensis*, *Chrysoperla* sp, *H. axyridis*, *H. variegata* y *H. convergens*, concordante con estudios de Aguilera y Rebolledo, (2013) y Thomson, (1999). Aunque, alusivo a las especies de depredadores que consumieron a la plaga, mediante el análisis intestinal se detectó mayor número coccinélidos adultos que poseían al pulgón lanígero en su estómago y menor cantidad en depredadores larvas (*E. rojasi* y *Chrysoperla* sp.).

En segunda instancia, se evaluó la diversidad de presas que consumían los depredadores, y se seleccionó al depredador más común por categoría. Entonces, en categoría 2 y 3 (contexto complejo) se detectó 4 especies de presas consumidas, mientras que en categoría 1 solo se detectó 2 especies de presa. Al mismo tiempo, se observó en las 3 categorías el consumo de 2 especies en particular *H. axyridis* y *E. lanigerum*. Donde se encontró que el porcentaje de los depredadores que consumieron a *H. axyridis* fue menor, que el porcentaje de depredadores que se alimentaron del pulgón lanígero del manzano (40% de los depredadores) de cada categoría. Estos datos son contrarios al estudio de Roschewitz *et al.*, (2005), en donde analizó que, en paisajes complejos atribuido a la mayor cantidad de especies alternativas, puede disminuir la depredación de la plaga. Por consiguiente, se estima que es necesario de poseer un mayor número de campos para realizar un análisis más completo del control y consumo de la plaga. Puesto que, los datos analizados demuestran que los depredadores si consumieron a *E. lanigerum*, pero la frecuencia de depredación del pulgón lanígero del manzano que se obtuvo en 9 de los 13 campos de manzano presentó un promedio solo de 36%.

Por otro lado, en afinidad a las interacciones negativas que se detectaron en este estudio fueron la depredación intragremio (DIG) y depredación intragremio coincidente (DIG-c). La proporción de DIG por campo presentó un promedio de 38% entre los 9 campos de manzano, mientras que, en un estudio realizado por Ortiz-Martínez *et al.*, (2019), presento una depredación intragremio de 92%, entre depredadores coccinélidos en trigo. En general en otros estudios estiman que la DIG en coccinélidos es alta. Sin embargo, existen múltiples factores que pueden afectar a la DIG como: la distribución de las presas fuera o dentro del gremio, tamaño de la presa, duración del ciclo vital, etapas de crecimiento, hibernación, entre otros (Cabrera *et al.*, 2022). Por lo tanto, los datos encontrados en el estudio pueden deberse a la escasez de las presas y enemigos naturales en los campos de investigación, ya que estos presentaban manejo convencional, en los que se observaba una alta aplicación de plaguicidas, reportado en estudios de Lordan *et al.*, (2015) y Ortoñez *et al.*, (2017) observando que la escasa diversidad de especies de depredadores puede ser atribuida al manejo de los huertos. Pues, durante la recolección de las muestras en los campos se observaban insectos muertos sobre las hojas, entre ellos coccinélidos.

En adición, la depredación intragremio coincidente por campo fue solo de 27%, lo que es considerado bajo, como en otros estudios (Thomas *et al.*, 2013). Mientras que, del total de los depredadores que consumieron pulgón lanígero del manzano solo 11 presentaron *A. mali* en su ADN estomacal, de ese total solo 4 poseían *E. lanigerum* y *A. mali* en su estómago, mientras que los 7 restantes solo revelaron *A. mali* en su dieta, lo que según Ortiz-Martínez *et al.*, (2019), puede ser una manifestación descifrable como la depredación directa del depredador sobre el parasitoide. Pero, también pudo ser afectado por la sensibilidad del partidador utilizado para detectar

el ADN del pulgón lanífero del manzano, ya que este sí detecto a la plaga en algunos depredadores, pero no en todos. Especialmente se esperaba detectar a la plaga en depredadores en estado de larva (*E. rojasi* y *Chrysoperla* sp.), ya que se encontraron consumiendo directamente de la colonia de los áfidos. Por lo cual en futuros estudios se deben realizar más ensayos de los partidores que reconocen específicamente a *E. lanigerum*, ya que en esta investigación se utilizó un partidor generalista de áfidos. En consecuencia, las interacciones negativas, no presentaron relación con los contextos paisajísticos, resultando a favor del estudio de Ortiz-Martínez *et al.*, (2019), que encontraron pocas pruebas entre el contexto paisajísticos y la DIGc.

Por último, concerniente al parasitismo, este presento un promedio del 37% entre los 9 campos de manzano, pudiendo ser explicado por Chacón y Heimpel (2010), que mencionan que los parasitoides prefieren dispersarse donde hay bajas densidades de áfidos cuando las plantas están colonizadas por coccinélidos, lo que podría explicar el bajo promedio de parasitismo. No obstante, en el gráfico de dispersión que indica la proporción de parasitismo y proporción de pulgón lanífero del manzano por categoría (ver figura N°10), se observó que la proporción de pulgón lanífero del manzano detectado en el ADN estomacal de los depredadores se mantuvo entre un 30% a 40% en la mayoría de los campos, mientras que el parasitismo siempre fue más elevado. Lo que podría sugerir que los depredadores no están siendo un impedimento para que los parasitoides ejerzan el control de la plaga.

En síntesis, este estudio no encontró relación entre las variables de estudio y el contexto paisajístico, sin embargo, se encuentran pequeñas diferencias entre el número de presas consumidas por los depredadores y, también abundancia de especies depredadoras en estado de larva más que en estado adulto (coccinélidos). Sin embargo, los datos adquiridos no pueden generar resultados concluyentes, pues la recolección de las muestras es deficiente para tomar decisiones a favor de contextos complejos y la relevancia de este tanto en el control biológico, como en la diversidad de especies, en campos de manzanos. Se adhiere a lo planteado anteriormente que los protocolos realizados en este estudio y los métodos utilizados para obtener las muestras en el campo son sujeto de material precursor para investigaciones futuras.

6. CONCLUSIONES

- Con la ayuda de técnicas moleculares de detección de ADN, se pudo establecer la dieta de los depredadores de solo 9 campos del total del estudio. Con las técnicas de detección y análisis intestinal se pudieron establecer lazos entre depredador-presa y también del parasitoide, a partir de recolección de muestras en campos de manzano.
- El partidador general de áfidos parece ser menos sensible en detectar pulgón lanígero del manzano en el contenido intestinal de los depredadores estudiados, ya que una gran parte de las larvas colectadas se observaron forrajeando sobre colonias de pulgón lanígero del manzano, pero el porcentaje de detección fue bajo.
- No se puede aceptar la hipótesis propuesta en este estudio, ya que la evidencia no sugiere que contextos más complejos del paisaje, resulten en mayores niveles de control biológico, medido como porcentaje de detecciones de la plaga.
- Tampoco se observó evidencia que existió una relación de los contextos con las interacciones negativas al control biológico, sin embargo, el alcance de este estudio es pequeño como para ser concluyente.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, T., Chambers, R., and Dixon, A. 1987. Quantification of the impact of the hoverfly, *Metasyrphus corollae* on the cereal aphid, *Sitobion avenae*, in winter wheat: laboratory rates of kill. *Entomologia experimentalis et applicata*, 43(2):, 153-157.

Aguilera, A. Rebolledo, R. Aguilera, A. Klein, K. 1970. Coccinélidos (Coleoptera) del Departamento de Arica. *Idesia* (Chile), 1: 67-74.

Aguilera, A., y Rebolledo, E. 2013. Nuevos registros de depredación en Chile: *Adalia angulifera* y *Eriopis connexa chilensis* (Coleoptera: Coccinellidae) sobre *eriosoma lanigerum* (Hemiptera: Pemphigidae). *Rev. Chilena Ent*, 38: 51-53.

Agustí, N., Shayler, S., Harwood, J., Vaughan, I., Sunderland, K., and Symondson, W. 2003. Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. *Molecular Ecology*, 12, 3467–3475.

Artigas, J. 1994. *Entomología Económica*. Ediciones Universidad de Concepción. Chile. Volumen 1. 1126 pp.

Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (ASOEX). 2021. Temporada 2020-2021: Exportaciones de frutas chilenas terminan con leve alza de 1,2%. Mientras China se consolida como segundo país de destino. [En línea] Recuperado en: <[https://www.asoex.cl/component/content/article/25-noticias/1029-temporada-2020-2021-exportaciones-de-frutas-chilenas-terminan-con-leve-alza-de-1-2-mientras-china-se-consolida-como-segundo-pais-de-destino.html#:~:text=Las%20diez%20principales%20frutas%20exportadas,7%25\)%2C%20ciruelas%20\(%20121.213%20ton>](https://www.asoex.cl/component/content/article/25-noticias/1029-temporada-2020-2021-exportaciones-de-frutas-chilenas-terminan-con-leve-alza-de-1-2-mientras-china-se-consolida-como-segundo-pais-de-destino.html#:~:text=Las%20diez%20principales%20frutas%20exportadas,7%25)%2C%20ciruelas%20(%20121.213%20ton>)>. Consultado el 15 de marzo de 2022.

August, P. 1983. The role of habitat complexity and heterogeneity in structuring tropical mammal communities. *Ecology*, 64:1495-1507.

Badilla, M. Navarro, H. Rosales, A. 2016. Manual técnico productivo y económico Manzana. CIREN (Centro de Información de Recursos Naturales). [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/123456789/26085>. Consultado el 01 de junio de 2021.

Banks, N. 1948. Chrysopidae (Nothochrysidae) collected in Mexico by Dr. A. Dampf (Neuroptera). *Psyche*, 55(4): 151-177.

Barahona-Segovia R, Riera P, Pañinao-Monsálvez L, Guzmán V, Henríquez-Piskulich P. 2021. Updating the knowledge of the flower flies (Diptera: Syrphidae) from Chile: Illustrated catalog, extinction risk and biological notes. *Zootaxa*, 4959(1):1-178.

Beers, E., Brunner, J., Willet, M., y Warner, G. 1993. Orchard Pest Management. Good Fruit Grower. Yakima, Washington, USA. 276 p.

Begg, G., Cook, S., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., et al. 2016. A functional overview of conservation biological control. *Crop protection*, 97:145-158

Bergh, J., and Stallings, J. 2016. Field evaluations of the contribution of predators and the parasitoid, *Aphelinus mali*, to biological control of woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum*, in Virginia. USA. *BioControl*, 61, 155–165.

Berta, D., Colomo M., y Ovruski N. 2002. Interrelaciones entre los áfidos colonizadores del tomate y sus himenópteros parasitoides en Tucumán (Argentina). *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 28: 67-77.

Bianchi, F., Booij, C., y Tschardtke, T. 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: A review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society. Biological Sciences*, 273: 1715-1727.

Biddinger D., y Hull L. 1995. Effects of several types of insecticides on the mite predator, *Stethorus punctum* (Coleoptera: Coccinellidae), including insect growth regulators and abamectin. *J Econ Entomol*, 88:358–366.

Blake, G., Sandler, H., Coli, W., Pober, D. and Coggins, C. 2007. An assessment of grower perceptions and factors influencing adoption of IPM in commercial cranberry production. *Renewable agriculture and food systems*, 22(2):134-144.

Borah, T., Rahman, A., Borthakur, M., and Barthakur B. 2012. Biology and predatory potential of a newly recorded Green lacewing, *Mallada* sp. (Neuroptera: Chrysopidae) on tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* (water house). *Two and bud*, 59:60-62.

Brown, M. y Schmitt, J. 1994. Population dynamics of woolly Apple aphid (Homóptera: Aphididae) in West Virginia apple orchards. *Environmental Entomology*. 23(5): 1182-1184.

Cabrera, P., Cormier, D., Bessette, M., Cruz, V., and Lucas, E. 2022. When the adaptive value of intraguild predation between an indigenous and an invasive ladybeetle is altered by an insecticide. *Journal of Pest Science*, 95(2): 797-810.

Chacón, J., and Heimpel, G. 2010. Density-dependent intraguild predation of an aphid parasitoid. *Oecologia*, 164(1): 213-220.

Chacón-Fuentes, M., Bravo, S., Reyes, C., Quiroz, A., Bardehle, L. 2018. Atracción de compuestos volátiles emitidos por el ecotipo 16-16 de murtila sobre el depredador *Crysoperla defreitasi* (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE). [En línea] Recuperado en: <[https://www.researchgate.net/profile/Manuel-Chacon-Fuentes/publication/330714068_Atraccion_de_compuestos_volatiles_emitidos_por_el_ecotipo_16-](https://www.researchgate.net/profile/Manuel-Chacon-Fuentes/publication/330714068_Atraccion_de_compuestos_volatiles_emitidos_por_el_ecotipo_16-16)

16_sobre_el_depredador_Chrysoperla_defreitasi/links/5c508672a6fdccd6b5d1da7e/Atraccion-de-compuestos-volaticos-emitidos-por-el-ecotipo-16-16-sobre-el-depredador-Chrysoperla-defreitasi.pdf>. Consultado el 15 de enero 2022.

Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M., Blitzer, E., y Kremen, C. 2011. A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecol. Lett.* 14: 922–932.

Chaplin-Kramer, R., Valpine, P., Mills, N., and Kremen, C. 2013. Detecting pest control services across spatial and temporal scales. *Agriculture, ecosystems & environment*, 181, 206-212.
Chappell, M. L. 2011. Food security and biodiversity: can we have both?. *Agric Hum Values*, 28:3–26.

Chappell, M. and La Valle, L. 2011. Food security and biodiversity: can we have both? An agroecological analysis. *Agriculture and human values*, 28(1), 3-26.

Clemente-Orta, G., y Álvarez, H. 2019. La influencia del paisaje agrícola en el control biológico desde una perspectiva espacial. *Ecosistemas*, 28(3): 13-25.

Cox, R., and Underwood, E. 2011. The Importance of Conserving Biodiversity Outside of Protected Areas in Mediterranean Ecosystems. *PLoS ONE*, 6(1): 1-6.

Cross, J., Fountain, M., Markó, V., y Nagy, C. 2015. Arthropod ecosystem services in apple orchards and their economic benefits. *Ecol. Entomol.* 40: 82–96.

Devotto, M. 2017. Pulgón lanífero del manzano. Ficha técnica n°5. INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). [En línea] Recuperado en: <<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/66944/NR42072.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Consultado el 27 de abril del 2021.

Duarte, L., Queirós, C., y Teodoro, A. 2021. Análisis comparativo de cuatro plugins de QGIS para la creación de mapas web. [En línea] Recuperado en: <https://lagranja.ups.edu.ec/pdf/granja/2Espanolautor_in_press-1.pdf>. Consultado el 23 de junio de 2021.

Dubrovsky, N., Ricci, M., Polack, L., y Marasas, M. 2017. Control biológico por conservación: evaluación de los enemigos naturales de *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) en un manejo agroecológico de producción al aire libre de repollo (*Brassica oleracea*) del Cinturón Hortícola de La Plata, Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Agronomía / Universidad Nacional de La Plata*, 116: 141-154.

FAO. 2004. La ética de la intensificación sostenible de la agricultura. [En línea] Recuperado en: <<http://www.fao.org/3/j0902s/j0902s.pdf>>. Consultado el 19 de abril del 2021.

Fortunato, N. 2015. Prácticas y representaciones sobre el uso de plaguicidas. Un crisol de razones en el Cinturón Hortícola Platense. Tesis de maestría para optar al grado de Magister

Scientiae en Procesos Locales de Innovación y Desarrollo Rural (PLIDER). La Plata, Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. 108 p.

Fundación para el Desarrollo Frutícola (FDF). 2004. Guía de monitoreo de plagas, Pomáceas y Carozos. [En línea] Recuperado en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/145558>. Consultado el 23 de mayo de 2021.

Gamboa, S., Souza, B., y Morales, R. 2016. Actividad depredadora de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) en cultivo de *Rosa* sp. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1): 54-58.

Gardiner, M., Landis, D., Gratton, C., DiFonzo, C., O'neal, M., Chacon, J. *et al.* 2009. Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA. *Ecological applications*, 19(1): 143-154.

Garipey, T., Kuhlmann, U., Gillott, C, and Erlandson, M. 2007. Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods. *Journal of Applied Entomology*, 131:225–240.

Ginocchio, R., Melo, O., Pliscoff, P., Camus, P., y Arellano, E. 2019. Conflicto entre la intensificación de la agricultura y la conservación biodiversidad en Chile: alternativas para la conciliación. *Centro de políticas públicas UC*, 15(118):1-24.

Gómez, P. 2014. Molecular identification and feeding ecology of arthropod generalist predators present in Mediterranean lettuce crops. To obtain the degree of Doctor by the University of Lleida. Lleida, España, Departament of plant production and forestry protection. 178p.

Gontijo, L., Cockfield, S., and Beers, E. 2012. Natural enemies of woolly apple aphid (Hemiptera: Aphididae) in Washington State. *Environmental Entomology*, 41(6):1364-1371.

González-Moreno, A., M. A. Marcos-García & P. Manrique-Saide. 2011. Registros nuevos de especies de sírfidos (Diptera: Syrphidae) para Yucatán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 1-18.

González, G. 2006. Los Coccinellidae de Chile: Clave de géneros de la subfamilia Coccinellinae presentes en Chile. [En línea]. Recuperado en: <https://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/PaginasOriginal/coccinellinaeclaves.php>. Consultado el 01 de Julio del 2021.

González, G. 2008. Lista y distribución geográfica de especies de Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile. *Boletín Museo Nacional de Historia Natural (Chile)*, 57: 77-107.

González, G. 2019. Lista actualizada de especies de Coccinellidae (Insecta :Coleoptera) presentes en Chile. [En línea] Recuperado en: https://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/PDFs/Lista_Coccinellidae_de_Chile_17_05_2019.pdf >. Consultado el 19 de abril del 2021.

González, G. 2021. Lista actualizada de especies de Coccinellidae (Insecta :Coleoptera) presentes en Chile. [En línea] Recuperado en: <http://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/PDFs/Lista_Coccinellidae_de_Chile_28_05_2021.pdf>. Consultado el 10 de diciembre del 2021.

González, R. 1989. Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile. Edit. Ograma, Santiago, Chile. 310 p.

Hagley, E., and Miles, N. 1987. Release of *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera:Chrysopidae) for control of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) on peach grown in a protected environment structure. *Can. Entomol*, 119: 119-205.

Harwood, J, and Obrycki, J. 2005. Quantifying aphid predation rates of generalist predators in the field. *European Journal of Entomology*, 102: 335–350.

Heimpel, G, y Mills, N. 2017. *Biological Control: ecology and applications*. Cambridge: Cambridge University Press.

Hernández, H., Galleguillos, M, y Estados, C. 2016. Mapa de Cobertura de Suelos de Chile 2014: Descripción del Producto. Laboratorio GEP, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile.

Holland, J., Douma, J., Crowley, L., James, L., Kor, L., Stevenson, D., *et al.* 2017. Semi-natural habitats support biological control, pollination and soil conservation in Europe. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 37: 4.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). 2007. *Agricultura orgánica. Principios y fundamentos*. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en:<<https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/7198.21p>>. Consultado el 21 de abril de 2021.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). 2017. *Agricultura orgánica. Principios y fundamentos*. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en:<<https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/7198.21p>>. Consultado el 21 de abril de 2021.

Jiménez, E .2009. *Métodos de control de plagas*. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria. 141 p. [En línea] Recuperado en :<<https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10J61me.pdf>> Consultado el: 01 de junio de 2021.

Jonsson, M., Buckley, H., Case, B., Wratten, S., Hale, R., Didham, R. 2012. Agricultural intensification drives landscape-context effects on host–parasitoid interactions in agroecosystems. *J. Appl. Ecol*. 49: 706–714.

Juen, A., and Traugott, M. 2007. Revealing species-specific trophic links in soil food webs: Molecular identification of scarab predators. *Molecular Ecology* 16: 1545–1557.

Kennedy, G. 2008. Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs. In *Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs*, Springer Netherlands. 1:1-26.

King, R., Read, D., Traugott, M., and Symondson, W. 2008. Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology*, 17(4): 947-963.

Krauss, J., Gallenberger, I., Steffan-Dewenter, I. 2011. Decreased functional diversity and biological pest control in conventional compared to organic crop fields. *PLoS One*. 6 (5) pe19502: 1-9.

Lavandero, B., Miranda, M., Ramirez, C., and Fuentes-Contreras, E. 2008. Landscape composition modulates population genetic structure of *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) on *Malus domestica* Borkh in central Chile. *Bulletin of Entomological Research*, 99(1): 97-105.

Landis D., Wratten S., Gurr G. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu Rev Entomol* 45:175–201.

Landis, D. 2017. Designing agricultural landscapes for biodiversity-based ecosystem services. *Basic and Applied Ecology*, 18: 1-12.

Letourneau, D., Jedlicka, J., Bothwell, S., and Moreno, C. 2009. Effects of Natural Enemy Biodiversity on the Suppression of Arthropod Herbivores in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 573–592.

López, R., Araya, J., y Sazo, L. 2012. Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de Allograpta. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 38(1): 3-15.

Lordan, J., Alegre, S., Gatiús, F., Sarasua, M., and Alins, G. 2015. Woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* Hausmann ecology and its relationship with climatic variables and natural enemies in Mediterranean areas. *Bull. Entomol. Res.* 105(1):60-9

Markó, V., Elek, Z., Kovács-Hostyánszki, A., Kőrösi, Á., Somay, L., Földesi, R., *et al.* 2017. Landscapes, orchards, pesticides—Abundance of beetles (Coleoptera) in apple orchards along pesticide toxicity and landscape complexity gradients. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 247: 246–254.

Markó, V., Keresztes, B., Fountain, M., and Cross, J. 2009. Prey availability, pesticides and the abundance of orchard spider communities. *Biol. Control* 48: 115–124.

Márquez, J. 2005. Técnicas de colectas y preservación de insectos. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa, 37: 385 – 408.

Memon, A., Omar, D., Muhamad, R., Sajap, A., Asib, N., and Gilal, A. 2015. Functional responses of green lacewing, *Chrysoperla nipponensis* (Neuroptera: Chrysopidae) reared on natural herb based artificial diet. Journal of Entomology and Zoology studies 3(6): 80-83.

Miñarro, M., y Dapena, E. 2008. Control biológico en el cultivo del manzano. Revista Tecnología agroalimentaria, 5: 12-15.

Miñarro, M. 2011. Los enemigos naturales de los pulgones. Revista Tecnología Agroalimentaria, 9: 7-12.

Müller, C., and Brodeur, J. (2002). Intraguild predation in biological control and conservation biology. Biological Control, 25: 216–223.

Nadeem, S., Hamed, M., Ishfaq, M., Nadeem, M., Hasnain., M, and Saeed N. 2014. Effect of Storage Duration And Low Temperatures On The Developmental Stages Of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). The Journal of Animal & Plant Sciences 24(5): 1569-1572.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2021. Superficie plantada nacional. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [EN línea] Recuperado en <<https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2021/01/Sup-plantada-nacional2021.xlsx>>. Consultado el 30 de junio de 2021.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2022. Agricultura orgánica chilena: estadísticas sectoriales 2019. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en:< <https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2022/03/Sup-plantada-nacional202202.xlsx>>. Consultado el 15 de marzo de 2022.

Ortiz-Martínez, S., Staudacher, K., Baumgartner, V., Traugott, M., y Lavandero, B. 2019. Intraguild predation is independent of landscape context and does not affect the temporal dynamics of aphids in cereal fields. Jpest Sci, 93:235-249.

Ordoñez B., Jacobo C., Quintana L., Parra Q., Guerrero., P y Ríos., C. 2017. Enemigos naturales asociados al pulgón lanífero en huertos de manzano con diferente manejo de plagas. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 8(4): 799-809.

Peñalver-Cruz, A., Alvarez, D. and Lavandero, B. 2019. Do hedgerows influence the natural biological control of woolly apple aphids in orchards? Journal of Pest Science. 93:219-234.

Pineda, A., y Marcos-García, M. 2008. Use of selected flowering plants in greenhouses to enhance aphidophagous hoverfly populations (Diptera: Syrphidae). Annales de la Société entomologique de France, 44(4): 487-492.

Pulgar, S. 2020. Resultados y lecciones en Sistema de control biológico de plagas utilizando drones: Proyecto de innovación en Región de Ñuble. [En línea] Recuperado en: <<http://200.54.45.229/bitstream/handle/20.500.11944/147879/149Drones.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Consultado el 15 de enero del 2022.

Ricarte, A., Marcos-García, M., Hancock, E., y Rotheray, G. 2012. Revision of the New World genus *Quichuana* Knab, 1913 (Diptera: Syrphidae), including descriptions of 24 new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166: 72–131.

Rojas, S. 2005. Control biológico de plagas en Chile. INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias). [En línea] Recuperado en: <<https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/3693>>. Consultado el 27 de abril del 2021.

Roschewitz, I., Hücker, M., Tschardt, T., and Thies, C. 2005. The influence of landscape context and farming practices on parasitism of cereal aphids. *Agriculture, ecosystems & environment*, 108(3): 218-227.

Rosenheim, J., Wilhoit, L., and Armer, C. 1993. Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia*, 96:439–449.

Salgado, C. 2021. Efecto de la matriz del paisaje, sobre el control biológico de *Eriosoma lanigerum* H. en huertos de manzano (*Malus domestica*) de la zona mediterránea. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile, Facultad de Ciencias Agroarias, Universidad de Talca. 36 p.

Sarwar, M. 2014. The propensity of different larval stages of lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) to control aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) evaluated on Canola, *Brassica napus* L. *Songklanakar J Sci Technol*, 36(2): 143-148.

Sheppard, S, and Harwood, J. 2005. Advances in molecular ecology: tracking trophic links through predator–prey food-webs. *Functional Ecology*, 19: 751–762.

Souza, B., y Carvalho, C. 2002. Population dynamics and seasonal occurrence of adults of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) in a citrus orchard in southern Brazil. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 48 (2): 301-310.

Souza, J. 2007. La problemática del uso de los agroquímicos y sus envases, su incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y sus envases. Primera edición. Buenos Aires, Argentina. 311p.

Staudacher, K., Jonsson, M., y Traugott, M. 2015. Diagnostic PCR assays to unravel food web interactions in cereal crops with focus on biological control of aphids. *Journal of Pest Science*, 89: 281–293.

- Symondson, W., y Harwood, J. 2014. Special issue on molecular detection of trophic interactions: unpicking the tangled bank. *Mol Ecol* 23:3601–3604.
- Thies, C. 1999. Landscape structure and biological control in agroecosystems. *Science*. 285:893–895.
- Thies, C., Haeneke, S., Scherber, C., Bengtsson, J., Bpmmarco, R., Clement, L., *et al.* 2011. The relationship between agricultural intensification and biological control: experimental tests across Europe. *Ecological Applications*, 21(6): 2187–2196.
- Thomas, A., Trotman, J., Wheatley, A., Aebi, A., Zindel, R., and Brown, P. 2013. Predation of native coccinellids by the invasive alien *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): detection in Britain by PCR-based gut analysis. *Insect Conservation and Diversity*, 6(1): 20-27.
- Thompson, F. 1999. A key to the genera of the flower flies (Diptera: Syrphidae) of the Neotropical region including descriptions of new genera and species and a glossary of taxonomic terms. *Contributions on Entomology, International*, Gainesville 3: 321-373.
- Traugott, M., Bell, J., Raso, L., Sint, D., and Symondson, W. 2012. Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. *Bulletin of Entomological Research*, 102: 239–247.
- Thomson, F. 1999. A key to the genera of the flower flies (Diptera: Syrphidae) of the Neotropical region including descriptions of new genera and species and a glossary of taxonomic terms. *Contributions on Entomology, International*, Gainesville 3: 321-373.
- Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J., and Plantegenest, M. 2013. Empirically Characterising Trophic Networks. *Advances in Ecological Research*, 49:177–224.
- Trichard, A., Alignier, A., Biju-Duval, L., and Petit, S. 2013. The relative effects of local management and landscape context on weed seed predation and carabid functional groups. *Basic and Applied Ecology*, 14(3): 235-245.
- Ulhaq, M., Sattar, A., Salihah, Z., Farid, A., Usman, A., and Khattak, S. 2006. Effect of different artificial diet on the biology of adult green lacewing (*Chrysoperla carnea*: Stephens.). *Songklanakarin J Sci Technol*, 28(1): 1-8.
- Van Huis, A., Meerman, F., and Takken, W. 1990. The role of the university system of donor countries in the promotion of IPM in the developing world. *FAO plant protection bulletin*, 38: 65-72.
- Vigueras, G. 2016. Efecto de aplicaciones repetidas de un detergente agrícola, en bajas concentraciones, para el control del pulgón lanígero del manzano, *Eriosoma lanigerum*, en

verano, sobre *malus doméstica*. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 35 p.

Vockeroth, J., y Thompson, F. 1987. Syrphidae. Manual of nearctic diptera. Biosystematics Research Centre (formerly Institute) Ottawa, Ontario. [EN línea] Recuperado en <https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/18913/ent_FCT_52.pdf?sequence=1>. Consultado el 14 de diciembre de 2021.

Walker, J. 1985. The influence of temperatura and natural enemies on population development of woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann). A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy. Pullman, WA, Estados Unidos, Department of Entomology. Washington State University. 88p.

Wilkinson, T., and Landis, D. 2005. 305: Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: a protective mutualism and its aplicaciones, Wackers, F, Van Rijn, P, Bruin, J. first edition. University Press, Reino Unido, Cambridge, 306p.

Woltz, J., Isaacs, R., and Landis, D. 2012. Landscape structure and habitat management differentially influence insect natural enemies in an agricultural landscape. Agriculture, Ecosystems & Environment, 152: 40-49.

Yuri, J. A., Simeone, D., Arenas, L., Fuentes, M., y Sepúlveda, Á. 2020. Los desafíos para una nueva manzana chilena. Revista de fruticultura, 78:38-47.

Zhao, Y., Feng, D., Yua, L., Wang, X., Chen, Y., Hernández, H.J., *et al.* 2016. Detailed dynamic land cover mapping of Chile: accuracy improvement by integrating multi-seasonal land cover data. Remote Sensing of Environment 183, 170–185.

Zúñiga, E. 1985. 80 años de control biológico en Chile. Revisión histórica y Evaluación de proyectos desarrollados (1903-1983). Agric. Técnica 45(3): 175-183.