



¿BUENOS O MALOS INQUILINOS? PAPEL DEL ENSAMBLE DE HORMIGAS
Y PULGONES SOBRE LA ADECUACIÓN DE CARDOS EXÓTICOS

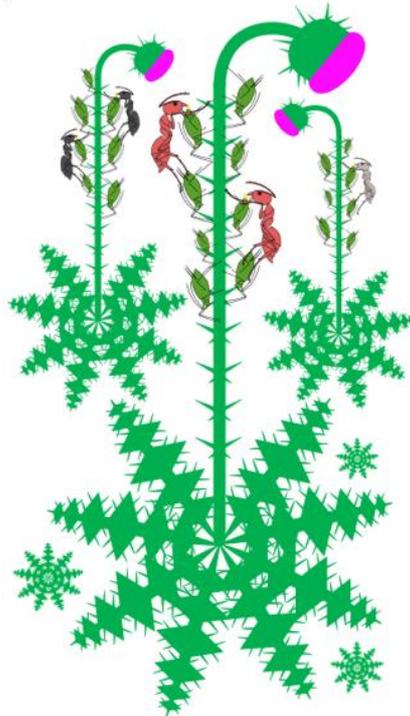
Trabajo de Tesis de Doctorado en Biología

2021

Lic. Andrés M. Devegili

Director: Dr. Alejandro G. Farji-Brener

Co-directora: Dra. María N. Lescano



Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

AGRADECIMIENTOS

Muchas personas contribuyeron de manera directa o indirecta a esta tesis doctoral.

Agradezco especialmente a ‘Guedi’ Alejandro Farji-Brener que –aparte de firmarme digitalmente una buena cantidad de papeles– me enseñó que la creatividad, el humor, y la sencillez no van en sentido opuesto a la investigación científica, sino todo lo contrario; y le agradezco por demostrarme que los científicos aún pueden jugar decentemente al fútbol luego de los 60s’. Agradezco encarecidamente a Natalia Lescano por presentarme el mundo de las hormigas y cardos en la Patagonia, y sobretodo por ser una incansable consejera y revisora en todas las fases de la tesis. A Ernesto Gianoli, que contribuyó a ordenarme las ideas y que mis manuscritos fueran claros y de mayor calidad. A Gabriela Pirk, Marina Alma, Daniela Ortiz, Victoria Werenkraut, Luciana Elizalde, y Vanina Chalcoff, con quienes compartí debates y proyectos sobre hormigas y otros bichos. A Yamila Sasal, Agustín Vitali, y Eelke Jongejans, con quienes disfruté debatir sobre modelos poblacionales. A Agustín Lovrich, Luciana Ammassari, Tomás González, y Daniela González, quienes me ayudaron en el campo y laboratorio. A Florencia Baudino, Jaime Ortego, y Guillermo González, quienes me identificaron insectos. A los miembros de LIHO y ECOLFUN que me dieron consejos en mis presentaciones. A los integrantes de Ecotono con quienes compartí charlas y seminarios. A CONICET y a la Univ. Nacional del Comahue, por el apoyo que recibí en la tesis. Por último, agradezco a aquellos que aportaron comidas, música, infusiones, y bebidas durante las fases de escritura. A mis familiares, amigos, músicos, y artistas.

RESUMEN

Las interacciones bióticas entre especies exóticas y nativas son importantes para explicar la invasión de especies. Estas interacciones pueden modular mecanismos de invasión de especies como la resistencia biótica o la facilitación-mutualismo. Las hormigas ordeñadoras de pulgones son excelentes modelos para examinar si los efectos indirectos de la biota nativa afectan la invasión de plantas. Por un lado, las hormigas pueden afectar negativamente la adecuación de las plantas al incrementar la abundancia y daño de los pulgones. Por otro lado, las hormigas pueden afectar positivamente la adecuación de las plantas al expulsar a los herbívoros no-pulgón de las mismas. Para comprobar si las hormigas pueden afectar indirectamente a la invasión de plantas, examiné un ensamble de hormigas ordeñadoras sobre el cardo exótico *Carduus thoermeri*. Esta planta es atacada por pulgones y el curculiónido *Rhinocyllus conicus*, que es un agente de control biológico de cardos. En experimentos de laboratorio, caractericé la agresividad de las hormigas contra los depredadores de pulgones y *R. conicus*. En experimentos a campo, evalué si las hormigas defienden a los pulgones de sus depredadores e influyen en el crecimiento poblacional de los pulgones sobre las plantas. Mediante análisis de vías, examiné efectos indirectos de las hormigas sobre la adecuación de *C. thoermeri*. Consideré dos hipótesis sobre los efectos indirectos de las hormigas: la hipótesis de “Resistencia biótica indirecta”, la cual predice un descenso de la adecuación de *C. thoermeri* al incrementar la abundancia y daño de los pulgones y la hipótesis de “Facilitación biótica indirecta”, la cual predice un incremento de la adecuación de *C. thoermeri* al expulsar a *R. conicus*. Finalmente, realicé un análisis poblacional donde evalué si las hormigas y *R. conicus* afectan las tasas de crecimiento poblacional de *C. thoermeri*. Encontré tres especies de hormigas ordeñadoras sobre *C. thoermeri*: *Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus* y *D. richteri*. Las especies

difirieron en su agresividad frente a los depredadores de pulgones y *R. conicus*; siendo *D. tener* la especie más agresiva. *Dorymyrmex tener* fue además la especie más frecuente y abundante sobre *C. thoermeri*. La hormiga *D. tener* expulsó exitosamente a los depredadores de pulgones de las plantas y afectó positivamente el crecimiento poblacional de los pulgones. Además, *D. tener* afectó indirecta y negativamente la reproducción de *C. thoermeri* por la vía de los pulgones (apoyando la hipótesis de “Resistencia biótica indirecta”). Sin embargo, *D. tener* no afectó indirectamente la reproducción de *C. thoermeri* por la vía de *R. conicus* (descartando la hipótesis de “Facilitación biótica indirecta”). A pesar que *D. tener* afectó negativamente la reproducción de *C. thoermeri*, esta especie no afectó el crecimiento poblacional de *C. thoermeri*. El controlador biológico *R. conicus* sí tuvo un efecto negativo sobre el crecimiento poblacional de *C. thoermeri*. Colectivamente, mis resultados evidencian que (1) la agresividad de las hormigas ordeñadoras es una característica clave para las poblaciones de pulgones sobre *C. thoermeri*, (2) solo las hormigas más agresivas afectan indirectamente la adecuación de *C. thoermeri*, y (3) las hormigas ordeñadoras no afectan la dinámica poblacional de *C. thoermeri*. Mi tesis destaca la importancia que tienen las interacciones bióticas indirectas y los estudios poblacionales en la comprensión de la invasión de especies.

PALABRAS CLAVE: Crecimiento poblacional, Facilitación, Hormigas ordeñadoras, Plantas invasoras, Pulgones, Resistencia biótica

ABSTRACT

Biotic interactions between exotic and native species are important to explain species invasion. They can modulate invasion mechanisms such as the biotic resistance or facilitation-mutualism. Aphid-tending ants that visit exotic plants looking for aphids are excellent models for examining indirect effects on plant invasion. On the one hand, aphid-tending ants can negatively affect plant fitness by increasing aphid infestation and sap-feeding damage. On the other hand, aphid-tending ants can positively affect plant fitness by expelling non-aphid herbivores from plants. To test whether ants can indirectly affect plant invasion, I examined an aphid-tending ant assemblage on the exotic thistle *Carduus thoermeri*. Thistles are attacked by aphids and the weevil *Rhinocyllus conicus*, which is a biological control agent. First, in laboratory experiments, I characterized the aggressiveness of aphid-tending ant species in confrontations with aphid predators and *R. conicus*. In the field, I examined whether ants effectively defend aphids from their predators and influence aphid population growth on *C. thoermeri*. With pathway analyses, I examined whether aphid-tending ants indirectly affect *C. thoermeri* fitness. I considered two hypotheses regarding ants' indirect effects: (1) a decrease in *C. thoermeri* fitness through an increase in aphid abundance and damage ("Indirect biotic resistance" hypothesis) and (2) an increase in *C. thoermeri* fitness through the removal of *R. conicus* ("Indirect biotic facilitation" hypothesis). Finally, I evaluated whether aphid-tending ants and *R. conicus* affect *C. thoermeri* population growth rates. I found three species of aphid-tending ants within *C. thoermeri* patches: *Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, and *D. richteri*. Ant species differed in their aggressiveness towards aphid predators and *R. conicus*; being *D. tener* the most aggressive species in the ant assemblage. *Dorymyrmex tener* was also more frequent and abundant on *C. thoermeri* than the other ant species. *Dorymyrmex*

tener effectively expelled aphid predators from the plants and positively affected aphid population growth. Concerning ants' indirect effects, I found that *D. tener* affects *C. thoermeri* reproduction through aphid abundance (support for the "Indirect biotic resistance" hypothesis). However, *D. tener* did not affect *C. thoermeri* reproduction through an effect on *R. conicus* (rejecting the "Indirect biotic facilitation" hypothesis). At the population level, ants did not affect *C. thoermeri* population growth. However, *R. conicus* negatively affected *C. thoermeri* population growth. My results show that (1) aphid-tending ant aggressiveness is related to aphid defense and aphid population growth, (2) only aggressive ant species indirectly affect *C. thoermeri* fitness through the aphid pathway, and (3) aphid-tending ants do not impact *C. thoermeri* population dynamics. My thesis highlights the importance of indirect biotic interactions and population studies in understanding species invasion.

KEYWORDS: Aphids, Aphid-tending ants, Biotic resistance, Facilitation, Invasive plants, Population growth

ÍNDICE

<i>Estructura de la tesis</i>	1
Capítulo 1 – Introducción general	3
<i>Invasión de especies: impactos y mecanismos</i>	4
<i>Efectos bióticos indirectos: importancia en las invasiones</i>	6
<i>Hormigas ordeñadoras: un modelo ideal</i>	9
<i>Objetivos</i>	14
<i>Sistema de estudio</i>	15
<i>Referencias</i>	22
Capítulo 2 – Foco en las hormigas y pulgones: la hormiga más agresiva incrementa la abundancia de pulgones	36
<i>Resumen</i>	37
<i>Abstract</i>	39
<i>Introducción</i>	41
<i>Materiales y Métodos</i>	44
<i>Resultados</i>	52
<i>Discusión</i>	58
<i>Referencias</i>	66
<i>Apéndice</i>	75
Capítulo 3 – Foco en la adecuación de la planta exótica: la hormiga más agresiva disminuye la reproducción del cardo	78
<i>Resumen</i>	79
<i>Abstract</i>	81
<i>Introducción</i>	83
<i>Materiales y Métodos</i>	87
<i>Resultados</i>	96
<i>Discusión</i>	104
<i>Referencias</i>	109
<i>Apéndice</i>	117
Capítulo 4 – Foco en la población de la planta exótica: las hormigas ordeñadoras no afectan la invasión del cardo	123
<i>Resumen</i>	124
<i>Abstract</i>	126
<i>Introducción</i>	128
<i>Materiales y Métodos</i>	130
<i>Resultados</i>	138

<i>Discusión</i>	144
<i>Referencias</i>	151
<i>Apéndice</i>	158
Capítulo 5 – Discusión general	166
<i>Hormigas ordeñadoras: la agresividad y abundancia importan</i>	167
<i>Efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras sobre las plantas exóticas</i>	169
<i>La importancia de los estudios poblacionales en la ecología de invasiones</i>	172
<i>La invasión del cardo en un marco global</i>	174
<i>Futuras direcciones</i>	176
<i>Referencias</i>	181
Trabajo de respaldo	186

ESTRUCTURA DE LA TESIS

En el **primer capítulo** presento el marco teórico general, objetivos, y el sistema de estudio de la tesis. En el **segundo, tercer, y cuarto capítulo** presento los resultados de la tesis en formato de publicación científica: título, resumen (español e inglés), introducción, materiales y métodos, resultados y figuras, discusión, conclusión, referencias, y apéndice.

El **segundo, tercer, y cuarto capítulo** están relacionados de tal manera que su avance implica un mayor nivel de complejidad en el sistema de estudio (Fig. 1). Al **segundo capítulo** lo enfoqué en las interacciones entre hormigas y pulgones. Allí caracterizo el ensamble de hormigas ordeñadoras y examino si las hormigas afectan la abundancia de los pulgones al protegerlos de sus depredadores (Fig. 1a). Al **tercer capítulo** lo enfoqué en la adecuación de la planta exótica. Allí analizo si las hormigas ordeñadoras afectan indirectamente la adecuación del cardo *C. thoermeri*. Examino por un lado la disminución de la adecuación del cardo al aumentar la abundancia de los pulgones y el consiguiente incremento del daño por succión de savia, y por otro lado, el aumento de la adecuación del cardo a través de la expulsión de herbívoros distintos al pulgón (Fig. 1b). Al **cuarto capítulo** lo enfoqué en la dinámica de la población de la planta exótica. Allí examino si las hormigas ordeñadoras de pulgones a través de sus efectos indirectos impactan sobre parámetros demográficos del cardo *C. thoermeri* y analizo si las hormigas ordeñadoras afectan la invasión del cardo (Fig. 1c).

En el **quinto capítulo** resumo e integro los hallazgos y destaco su contribución a la teoría desarrollada en el **primer capítulo**.

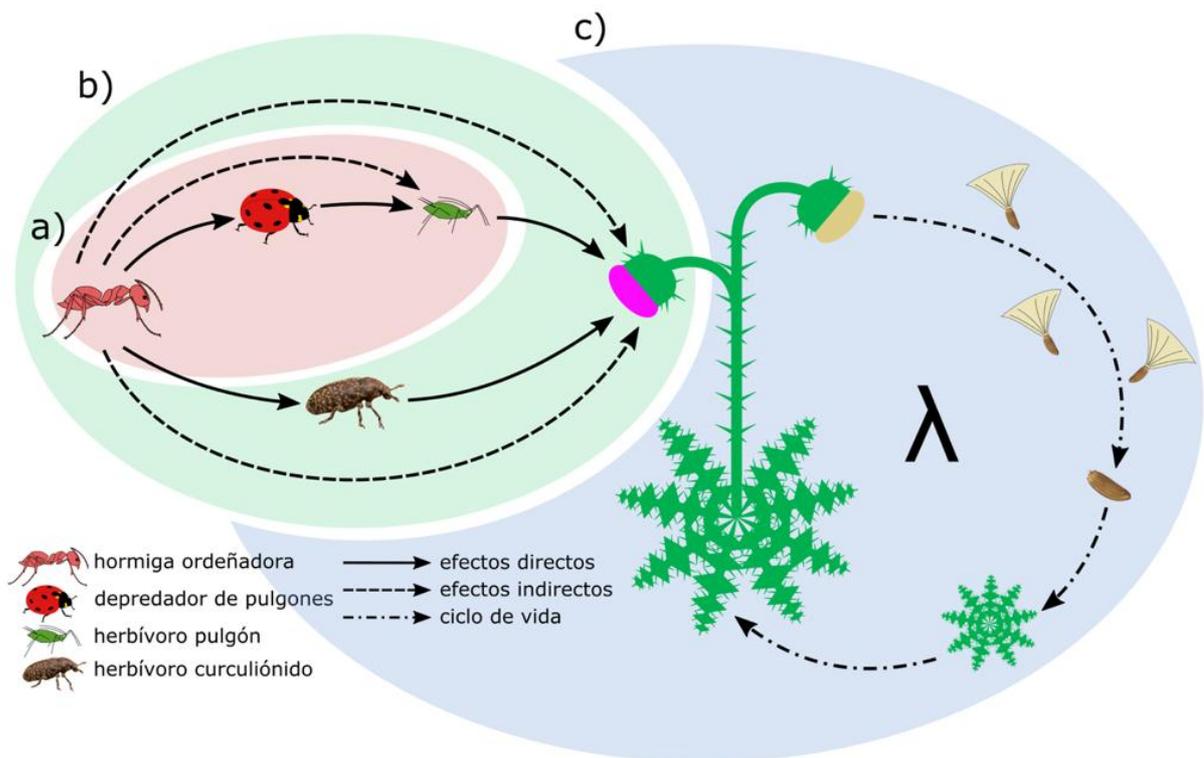


FIG. 1 Estructura de la tesis. a) En el **segundo capítulo** (óvalo rojo) me enfoqué en las hormigas ordeñadoras y los pulgones. Allí caracterizo el ensamble de hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*) y examino si las hormigas afectan la adecuación del pulgón *Brachycaudus cardui* al defenderlo de sus enemigos naturales (mariquitas y larvas de sírfido). b) En el **tercer capítulo** (óvalo verde) me enfoqué en la adecuación de la planta exótica. Allí analizo si la interacción de las hormigas con los pulgones y otros herbívoros afectan indirectamente la adecuación del cardo *Carduus thoermeri*. Examino dos efectos indirectos de las hormigas. Rama superior: disminución de la adecuación del cardo a través del beneficio al pulgón *Brachycaudus cardui* y el consiguiente incremento del daño por succión de savia. Rama inferior: aumento de la adecuación del cardo a través de la expulsión del herbívoro masticador *Rhinocyllus conicus*. c) En el **cuarto capítulo** (óvalo azul) me enfoqué en la población de la planta exótica. Allí examino si las hormigas ordeñadoras impactan en las tasas de crecimiento poblacional del cardo (λ , lambda) y analizo si las hormigas ordeñadoras afectan la invasión del cardo.

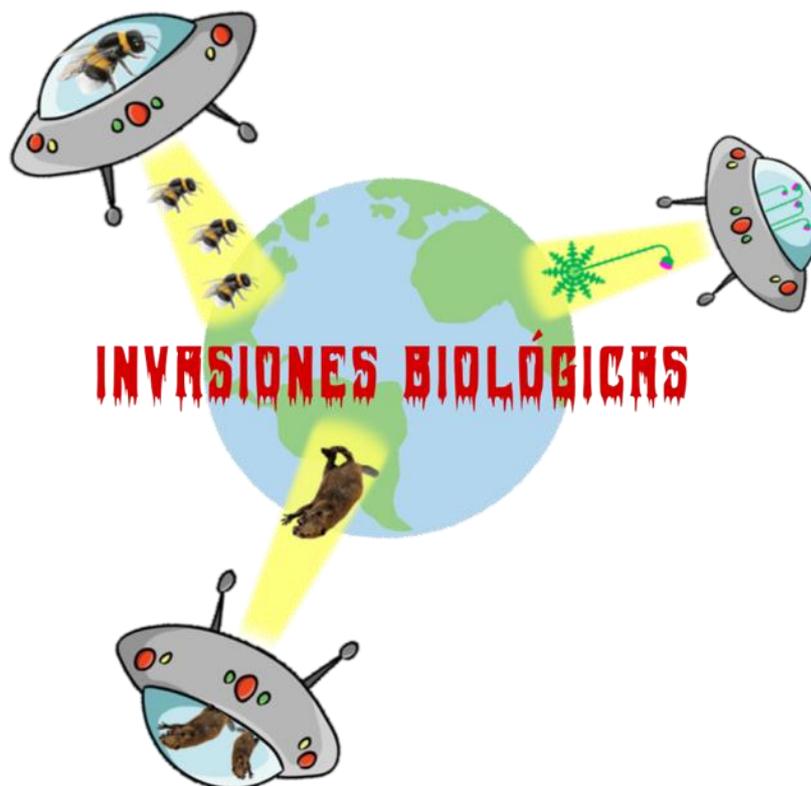
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO 2 – FOCO EN LAS HORMIGAS Y PULGONES

CAPÍTULO 3 – FOCO EN LA ADECUACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 4 – FOCO EN LA POBLACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN GENERAL



INVASIÓN DE ESPECIES: IMPACTOS Y MECANISMOS

Las especies invasoras son una de las principales amenazas para la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas naturales (Ehrenfeld 2010; McGeoch *et al.* 2010). El aumento de la abundancia de especies invasoras afecta las propiedades de los hábitats al provocar la pérdida de especies nativas, la disrupción de interacciones bióticas, el cambio de los regímenes de perturbación, y la modificación de procesos ecosistémicos (Mack & D'Antonio 1998; Yurkonis *et al.* 2005; Stinson *et al.* 2006; Traveset & Richardson 2006; Liao *et al.* 2008; Ehrenfeld 2010; McCary *et al.* 2016). Las actividades antropogénicas y creciente globalización han acelerado significativamente la invasión de especies y sus impactos deletéreos sobre la naturaleza (Hulme 2009). Por consiguiente, comprender los mecanismos que afectan la invasión de especies es una tarea central y acuciante entre ecólogos.

Múltiples hipótesis y mecanismos han sido propuestos para explicar el éxito o fracaso de las especies exóticas (Catford *et al.* 2009). La existencia de nichos vacíos, la ausencia de resistencia biótica, una elevada presión de propágulos, el escape de los enemigos naturales, la presencia de mutualismos, la facilitación de la biota nativa, y la plasticidad fenotípica, pueden potenciar el establecimiento y propagación de especies exóticas (Richardson *et al.* 2000; Davis & Pelsor 2001; Keane & Crawley 2002; Kennedy *et al.* 2002; Levine *et al.* 2004; Lockwood *et al.* 2005; Richards *et al.* 2006). La hipótesis del ‘colapso invasivo’ (*invasional meltdown*) afirma que las interacciones de facilitación entre las especies invasoras inician una retroalimentación positiva a nivel de población que intensifica los impactos y promueve nuevas invasiones (Simberloff & Von Holle 1999). Además, se ha avanzado significativamente en la creación de marcos conceptuales que engloban los anteriores mecanismos que determinan la invasión de especies (Catford *et al.* 2009). Para examinar los mecanismos de invasión suelen usarse

componentes de adecuación individual de las especies exóticas, como la reproducción, supervivencia, y/o crecimiento (e.g., Gelbard & Harrison 2005; Going *et al.* 2009; Cripps *et al.* 2010; Correia *et al.* 2016; Conti *et al.* 2018), mientras que el nivel demográfico o dinámica poblacional no es frecuentemente considerado. Integrar la escala individual (i.e., componentes de adecuación) y comunitaria (e.g., interacciones bióticas) con la escala demográfica es clave en dichos estudios, ya que el proceso de invasión es el resultado de una combinación de procesos ecológicos que operan a distintas escalas (Ramula *et al.* 2008; Burns *et al.* 2013; Jelbert *et al.* 2019).

Los estudios demográficos son importantes porque proporcionan un marco integrador para examinar efectos conjuntos a nivel de la población de la especie invasora (Mitchell *et al.* 2006; Falcón *et al.* 2017). Si la adecuación de una especie exótica se explica por un aumento en la disponibilidad de recursos, entonces es importante identificar y manejar el agente que potencia ese aumento. Por ejemplo, el establecimiento y reproducción del cardo invasor *Carduus thoermeri* en Argentina está facilitado por basureros enriquecidos en nutrientes de los nidos de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* (Farji-Brener & Ghermandi 2004, 2008). Un posible manejo de *C. thoermeri* es evitar que sus semillas lleguen a los basureros de hormigas o bien controlar la cantidad de basureros en las zonas donde *C. thoermeri* prospera, como los bordes de las carreteras (Farji-Brener & Ghermandi 2008). Si, en cambio, el mecanismo que afecta el éxito de una especie exótica es la resistencia biótica (Elton 1958), entonces es importante proteger y aumentar la abundancia de las especies que confieren dicha resistencia. Por ejemplo, el cardo invasor *C. thoermeri* es atacado por pulgones que disminuyen su reproducción (Chalcoff *et al.* 2019). La tasa de crecimiento poblacional es un excelente estimador del grado y capacidad de invasión de una especie (Ramula *et al.* 2008) y, por tanto, un parámetro importante para determinar mecanismos

de invasión (e.g., resistencia biótica e ‘colapso invasivo’ en Falcón *et al.* 2017). Por todas estas razones, incluir múltiples enfoques en el estudio de la invasión de especies nos aportará una aproximación más integral al ciclo vital completo de la especie exótica y a entender mejor los mecanismos que promueven su establecimiento y expansión. Esta información será clave para evitar o mitigar el impacto de las especies exóticas en áreas naturales (Gelbard & Harrison 2005).

EFFECTOS BIÓTICOS INDIRECTOS: IMPORTANCIA EN LAS INVASIONES

Los efectos bióticos indirectos son claves para los sistemas naturales ya que afectan la dinámica de poblaciones, comunidades y ecosistemas (Moran *et al.* 1996; Moksnes *et al.* 2008; Weidenhamer & Callaway 2010). Por definición, los efectos bióticos indirectos ocurren cuando el impacto de una especie sobre una segunda requiere la presencia de una tercera especie (Wootton 1994). Hay dos mecanismos básicos de efectos bióticos indirectos. El primero ocurre cuando una especie propaga indirectamente su efecto a través de una serie de efectos directos. Si el efecto se propaga en más de dos niveles tróficos se lo denomina cascada trófica. Las cascadas tróficas se clasifican en cascadas ‘hacia arriba’ o ‘hacia abajo’. Las cascadas ‘hacia arriba’ se desencadenan en niveles tróficos inferiores (e.g., productores primarios) y sus efectos se propagan hacia los niveles tróficos superiores (e.g., depredadores). Por ejemplo, los basureros de los nidos de hormigas cortadoras de hojas actúan como ‘islas de fertilidad’ aumentando el crecimiento de las plantas, la abundancia de pulgones que las infestan, y la abundancia de hormigas ordeñadoras de pulgones (Lescano & Farji-Brener 2011; Lescano *et al.* 2012). De manera contraria, las cascadas ‘hacia abajo’ se desencadenan en los niveles tróficos superiores (e.g., depredadores) y se propagan hacia los niveles tróficos inferiores (e.g., productores primarios). Por ejemplo, las hormigas que visitan al

nogal americano (*Carya* sp.) en búsqueda de la melaza de pulgones, disminuyen la herbivoría de otros insectos, y esto beneficia el crecimiento de las plantas (Clark *et al.* 2019). El segundo mecanismo ocurre cuando una especie modifica la interacción entre otras dos especies ('interacción entre interacciones'). Por ejemplo, el consumo de las plantas por parte de herbívoros puede modificar caracteres de las plantas que son claves para la polinización, como el tamaño de las flores y la cantidad de néctar de las flores (Mothershead & Marquis 2000; Rusman *et al.* 2019; Devegili & Chalcoff 2020); así, la interacción herbívoro-planta puede afectar indirectamente a la interacción planta-polinizador. Pese a la gran relevancia ecológica de los efectos bióticos indirectos en las comunidades nativas, éstos han recibido relativamente poca atención para explicar las invasiones biológicas (White *et al.* 2006; Ricciardi *et al.* 2013).

La dificultad en predecir el éxito e impacto de las especies exóticas puede deberse a que usualmente nos enfocamos sobre una única explicación al fenómeno de invasión (e.g., un simple conjunto de rasgos de las especies o considerar interacciones de a pares en sistemas multi-específicos). Los mecanismos de invasión e impacto tal vez sean mucho más sutiles y complejos de lo que pensamos (Mack 1996; Lavorel *et al.* 1999); podrían ocurrir interacciones entre múltiples especies y múltiples características del nuevo sistema (Schierenbeck *et al.* 1994; Richardson *et al.* 2000). En este escenario, los efectos bióticos indirectos podrían ser clave para entender el éxito de invasión y para comprender los impactos de las invasoras sobre las comunidades nativas (Mitchell *et al.* 2006). Mecanismos como la competencia aparente, facilitación indirecta, competencia por explotación (en inglés, *exploitative competition*), y cascadas tróficas, incluyen efectos bióticos indirectos que pueden ser importantes para la invasión de especies (White *et al.* 2006).

La hipótesis de la resistencia biótica afirma que el fracaso en el establecimiento y dispersión de las especies exóticas se debe a la fuerte resistencia de las especies nativas de la comunidad (Elton 1958). Esta hipótesis se basa en interacciones bióticas perjudiciales para las especies exóticas, por ejemplo, herbívoros nativos que atacan a las plantas exóticas y disminuyen su capacidad de invasión (Maron & Vilà 2001; Fig. 1.1a). Si bien la resistencia biótica se basa en interacciones de a pares, otras especies de la comunidad también pueden influir en la resistencia biótica de manera indirecta (Fig. 1.1b). En esta tesis me centraré en hormigas ordeñadoras, sus efectos indirectos sobre las plantas, y exploraré si estas interacciones indirectas pueden afectar la invasión de plantas exóticas.

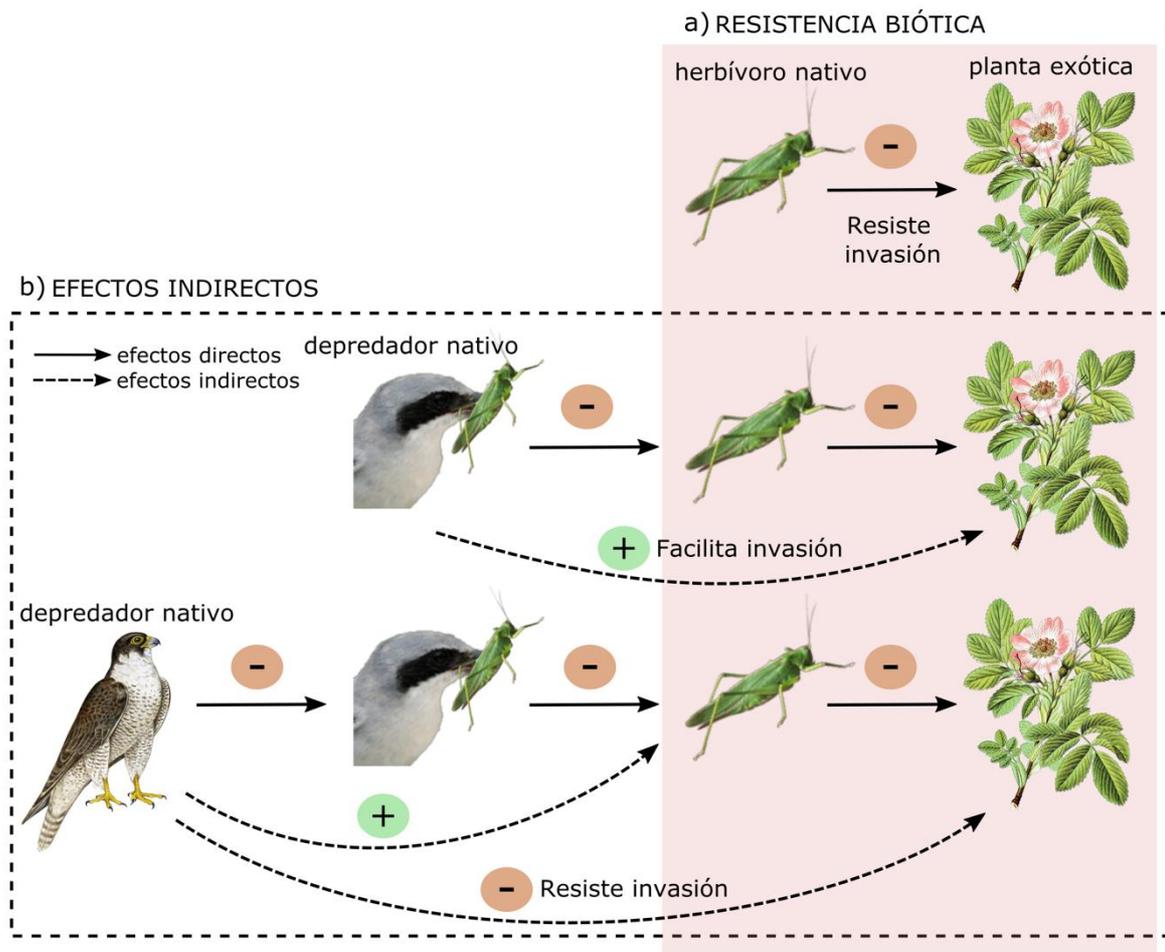


Fig. 1.1 Posible papel de los efectos bióticos indirectos en la invasión de especies. a) Mecanismo de Resistencia biótica (Elton 1958) en el cual un herbívoro nativo resiste la invasión de una planta exótica. b) Dos posibles efectos indirectos moduladores del

mecanismo de Resistencia biótica. En el primer caso, el depredador de primer orden facilita indirectamente la invasión de la planta exótica al reducir la abundancia del herbívoro nativo. En el segundo caso, el depredador de segundo orden resiste indirectamente la invasión de la planta exótica al reducir la abundancia del depredador de primer orden e incrementar indirectamente la abundancia del herbívoro nativo

HORMIGAS ORDEÑADORAS: UN MODELO IDEAL

Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) son uno de los insectos más dominantes en la tierra, tanto numérica como ecológicamente (Beattie 1985; Hölldobler & Wilson 1990; Beattie & Hughes 2002; Lach *et al.* 2010). Están involucradas en funciones ecosistémicas claves como la dispersión o depredación de semillas (MacMahon *et al.* 2000; Van Oudtshoorn & Van Rooyen 2013), depredación de animales (Kaspari & O'Donnell 2003), protección de plantas u otros insectos (Rico-Gray & Oliveira 2007; Trager *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2012), control de la producción primaria (Costa *et al.* 2008), y polinización (Beattie 2006; De Vega *et al.* 2014; Ibarra-Isassi & Oliveira 2018). Algunas especies de hormigas son ingenieras de ecosistemas. Por ejemplo, las hormigas cortadoras de hojas pueden alterar la estructura y el microclima de bosques (Farji-Brener & Illes 2000, Corrêa *et al.* 2010; Meyer *et al.* 2011). Las hormigas además establecen mutualismos con hemípteros y por medio de estas interacciones pueden desencadenar grandes impactos a nivel de paisaje (Styrsky & Eubanks 2007; Clark *et al.* 2019).

El mutualismo hormiga-hemíptero es una interacción clave en las comunidades terrestres (Styrsky & Eubanks 2007; Zhang *et al.* 2012; Clark *et al.* 2019). Los pulgones, membrácidos, y cochinillas son los principales hemípteros ordeñados por las hormigas sobre las plantas. Los pulgones son herbívoros que se alimentan del floema de las plantas y al hacerlo excretan gotas de melaza, que es una sustancia muy rica en carbohidratos (Auclair 1963; Stadler & Dixon 2005). Los carbohidratos son importantes para el mantenimiento y desarrollo de las colonias de hormigas ya que proporcionan energía para todas las actividades, tanto dentro como fuera del nido (Grover *et al.* 2007;

Dussutour & Simpson 2008). Las hormigas ordeñadoras obtienen carbohidratos de las gotas de melaza de los pulgones y a cambio, los pulgones reciben de las hormigas una serie de servicios como protección, limpieza, y/o transporte (Ho & Khoo 1997; Nielsen *et al.* 2010; Durak *et al.* 2016). La presencia de hormigas usualmente aumenta la supervivencia y tasa de crecimiento individual de los pulgones (Flatt & Weisser 2000), y las hormigas obtienen una fuente permanente y accesible de alimento a un muy bajo costo (Buckley 1987; Styrsky & Eubanks 2007; Durak *et al.* 2016). Sin embargo, las hormigas también pueden ser perjudiciales para los pulgones (Stadler & Dixon 1998; Yao 2014). Las hormigas depredan pulgones cuando hay fuentes alternativas de carbohidratos o cuando escasean proteínas en su dieta (Sakata 1994; Offenberg 2001). Además, las hormigas ordeñadoras a veces sobre-exigen a los pulgones para que excreten melaza (Takeda *et al.* 1982), lo cual puede estresarlos y alterar negativamente su fisiología (Stadler & Dixon 1998; Yao *et al.* 2000). La interacción hormiga-pulgón es importante desde un punto de vista práctico, como por ejemplo en el manejo de agroecosistemas. Los pulgones son plaga de varios tipos de cultivos (Van Emden & Harrington 2007) y, en asociación con las hormigas, pueden causar pérdidas considerables en el rendimiento de los cultivos (Wu *et al.* 2014; Levan & Holway 2015; Canedo-Júnior *et al.* 2017). Paralelamente, la interacción hormiga-pulgón es importante desde un punto de vista teórico. Las hormigas ordeñadoras y los pulgones son modelos claves para entender el funcionamiento de los mutualismos y la estructuración de las comunidades de plantas y animales (Bronstein 2015; Clark *et al.* 2019).

Las hormigas ordeñadoras de pulgones pueden desencadenar efectos indirectos con impactos sobre la adecuación de las plantas (Styrsky & Eubanks 2007). Estos efectos indirectos se pueden sintetizar en tres vías. Primero, las hormigas ordeñadoras pueden disminuir indirectamente la adecuación de las plantas al aumentar la abundancia

de pulgones (Ortega-Ramos *et al.* 2020; Fig. 1.2a). El aumento de la abundancia de pulgones incrementa su daño por succión de savia, lo que puede afectar negativamente la producción de frutos y semillas de la planta hospedera (Renault *et al.* 2005; Canedo-Júnior *et al.* 2017). Segundo, las hormigas ordeñadoras pueden afectar negativa e indirectamente la adecuación de las plantas al disuadir a los polinizadores, lo que disminuye la polinización cruzada, y reduce la producción de semillas (LeVan & Holway 2015; Ibarra-Isassi & Oliveira 2018; Fig. 1.2b). Sin embargo, también se ha visto que las hormigas ordeñadoras benefician la reproducción de las plantas al disuadir solo a los polinizadores menos efectivos, reducir el parasitismo de las flores, o actuar ellas mismas como agentes de polinización (Schürch *et al.* 2000; Bleil *et al.* 2011; González *et al.* 2013). Tercero, las hormigas incrementan indirectamente la adecuación de las plantas al protegerlas de los herbívoros no-pulgón (Fig. 1.2c). Por ejemplo, al patrullar las plantas con pulgones, las hormigas ordeñadoras pueden reducir la abundancia de otros herbívoros, como los masticadores de hojas (Rosumek *et al.* 2009; Styrsky & Eubanks 2010; Trager *et al.* 2010; Zhang *et al.* 2012). En caso de que estos efectos indirectos ocurran simultáneamente, el efecto neto de las hormigas ordeñadoras sobre la adecuación de la planta resultará del balance de los efectos indirectos negativos y positivos (Messina 1981; Styrsky & Eubanks 2007).

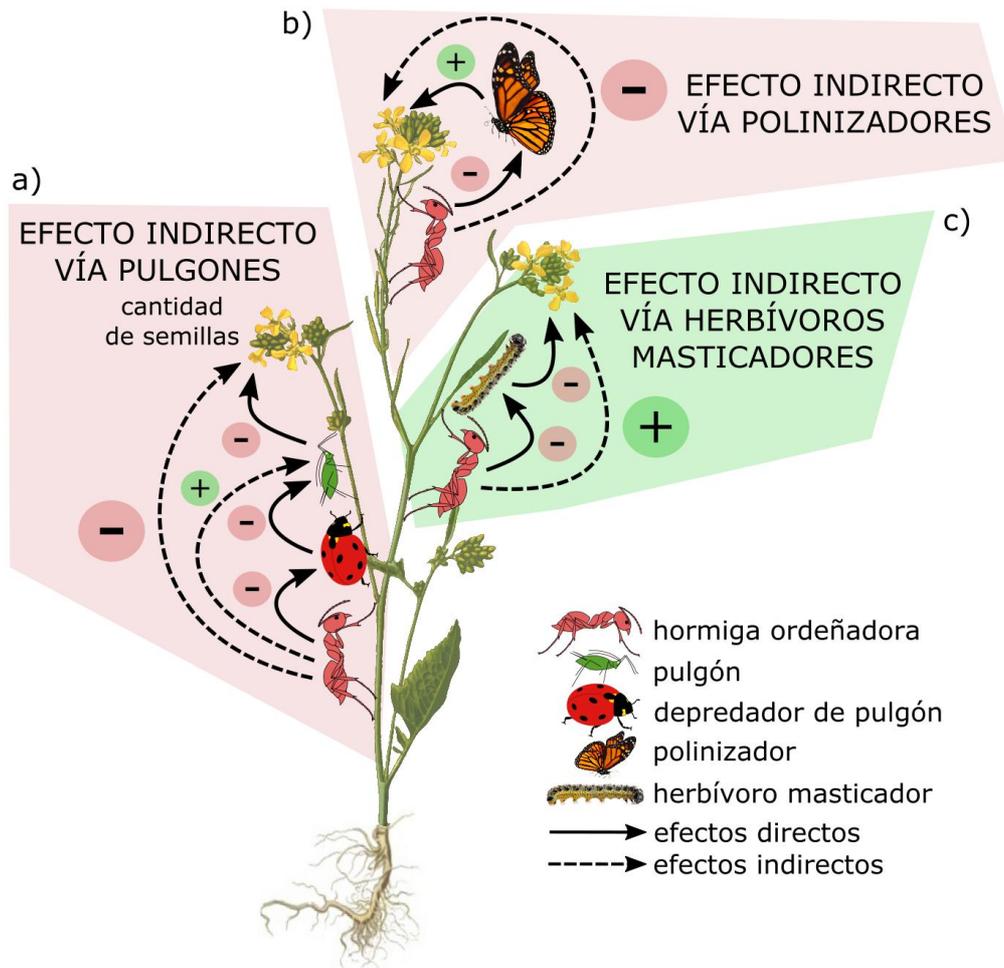


FIG. 1.2 Efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras de pulgones en la adecuación de las plantas. Las hormigas ordeñadoras pueden a) causar efectos indirectos negativos en la adecuación de las plantas por medio de la protección de los pulgones frente a sus depredadores naturales; b) causar efectos indirectos negativos en la adecuación de las plantas al disuadir a los polinizadores y evitar la polinización cruzada; y c) causar efectos indirectos positivos en la adecuación de las plantas al expulsar herbívoros distintos a los pulgones como los masticadores de hojas. Los efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras pueden ocurrir en simultáneo, por lo tanto, el efecto neto en la adecuación de las plantas resultará del balance de efectos indirectos negativos y positivos. Estos efectos indirectos también pueden ocurrir en sistemas con hormigas ordeñadoras y otros hemípteros, como los membrácidos o cochinillas

Para determinar el efecto neto de las hormigas ordeñadoras sobre la adecuación de las plantas es importante conocer las características del mutualismo hormiga-pulgón y determinar qué características de las hormigas podrían modular sus efectos indirectos sobre las plantas. La interacción mutualista hormiga-pulgón es de tipo facultativa, lo que indica que ambas partes pueden sobrevivir prescindiendo de la otra (Styrsky &

Eubanks 2010; Yao 2014; para algunas interacciones obligadas ver Durak *et al.* 2016). Además, la interacción hormiga-pulgón es generalizada, lo que indica que una especie de hormiga puede ordeñar varias especies de pulgón, y una especie de pulgón puede ser atendida por varias especies de hormigas (e.g., Lescano & Farji-Brener 2011; LeVan *et al.* 2018). Estas dos características de la relación hormiga-pulgón nos indican que no todas las especies de hormigas estarán necesariamente presentes durante todo el ciclo de vida de las plantas y que posiblemente encontremos más de una especie de hormiga ordeñando pulgones (e.g., Novgorodova 2005; Mooney & Mandal 2010; LeVan *et al.* 2018). Esto es clave, ya que la calidad (estimada por la agresividad) y la cantidad de la defensa (estimada por la abundancia) que proveen las hormigas a pulgones y plantas puede variar según la especie de hormiga (Ness *et al.* 2006; Clark & Singer 2018). Por lo tanto, el efecto neto de las hormigas ordeñadoras sobre las plantas huésped posiblemente dependa de la especie de hormiga que ordeñe a los pulgones. Así, si las plantas están ocupadas en su mayor tiempo por especies de hormiga dominantes y agresivas, entonces, es esperable que los pulgones recibirían una mejor defensa contra sus enemigos naturales (e.g., Clark & Singer 2018). La mayor defensa podría aumentar el grado de infestación de los pulgones sobre la planta y la succión de savia, lo que es negativo para la adecuación de la planta. Sin embargo, las hormigas de especies más agresivas también podrían expulsar a otros herbívoros no-pulgón de las plantas y esto, al ser positivo para la adecuación de la planta, podría contrarrestar el efecto negativo de los pulgones. A su vez, en escenarios en el que varias especies de hormigas visitan a una misma planta, podría ocurrir interferencia o complementación de los servicios de defensa de las especies de hormiga, y esto también podría ser importante a la hora de definir el efecto neto de las hormigas sobre la adecuación de las plantas (e.g., Palmer *et al.* 2010; Bruna *et al.* 2014). Entonces, para determinar si las hormigas ordeñadoras

favorecen o reducen la adecuación de las plantas es clave identificar a todas las hormigas del ensamble, analizar su nivel de agresividad y dominancia, y caracterizar qué efectos indirectos podrían desencadenar las hormigas sobre la planta huésped.

Por lo mencionado anteriormente, si la planta que alberga la interacción hormiga-pulgón es una especie exótica, las hormigas podrían modular su proceso de invasión a través de sus múltiples efectos indirectos sobre la planta (Fig. 1.2). En consecuencia, dependiendo del ensamble de hormigas que visitan a la planta exótica y de su efecto neto sobre la adecuación de dicha planta, su presencia podría favorecer o limitar el proceso de invasión.

OBJETIVOS

Como objetivo general me propongo examinar si la invasión de una planta exótica infestada de pulgones, se ve favorecida o perjudicada por la presencia de hormigas nativas ordeñadoras de pulgones. Me planteo a su vez tres objetivos particulares enfocados en 1) las hormigas ordeñadoras y pulgones, 2) la adecuación de la planta exótica, y 3) la población de la planta exótica. En el primer objetivo particular me propongo determinar si la agresividad y abundancia de las hormigas ordeñadoras afectan la abundancia de los pulgones. En el segundo objetivo particular me propongo examinar si las hormigas afectan indirectamente la adecuación de la planta exótica al incrementar la abundancia de pulgones y expulsar a los herbívoros no-pulgón. En el tercer objetivo particular me propongo determinar si las hormigas tienen efecto sobre la dinámica poblacional de la planta exótica, y con ello pretendo entender si las hormigas pueden influir sobre el proceso de invasión de la planta. Las hipótesis y predicciones las detallaré en los capítulos estipulados para cada objetivo particular (ver ESTRUCTURA DE LA TESIS).

SISTEMA DE ESTUDIO

Sitio de estudio

El estudio lo realicé en el noroeste de la Patagonia (Argentina), en tres áreas semi-urbanizadas que presentan plantas herbáceas y arbustivas nativas de la estepa patagónica (e.g., *Mulinum spinosum*, *Pappostipa speciosa*, *Oenothera odorata*, *Quinchamalium chilense*, *Anemone multifida*, *Discaria articulata*, *Acaena caespitosa*, *Senecio filaginoides*, y *Phacelia secunda*) y plantas exóticas (e.g., *Carduus thoermeri*, *Rosa eglanteria*, *Pinus* sp., *Bromus tectorum*, *Erodium cicutarium*, y *Cytisus scoparius*). Estas áreas de estudio se encuentran al Este del casco urbano de la ciudad de San Carlos de Bariloche (41.14° S; 71.30° O). El clima de la región es seco y frío, con una temperatura media anual de 8 °C y una precipitación media anual de 600 mm que ocurre mayormente durante el invierno (Dimitri 1962).

Planta invasora

Para comprender si las hormigas ordeñadoras afectan la invasión de las plantas exóticas infestadas de pulgones, usé como modelo a la especie exótica *Carduus thoermeri* Weinm (n.v. cardo pendiente, Asteraceae; Fig. 1.3a, b). Esta planta es de origen euroasiático y altamente invasora (Doing *et al.* 1969; Shea *et al.* 2005). Reduce la productividad de los sistemas agrícola-ganaderos, lo que genera grandes pérdidas económicas (Desrochers *et al.* 1988). En Argentina, está documentada su presencia desde 1920 (Holm *et al.* 1979). En 1963 se la declaró plaga de la agricultura por medio del Decreto-Ley N° 6704/63. En el NO de la Patagonia, esta planta es muy abundante en zonas disturbadas de la ciudad y estepa, como áreas en construcción (e.g., Fig. 1.3a) y bordes de rutas (Farji-Brener & Ghermandi 2008).

Carduus thoermeri es una planta monocárpica con un ciclo de vida bienal. Las plántulas emergen a principios de la primavera y forman una roseta que crece durante un año. La roseta luego forma de uno a varios tallos que sustentan las inflorescencias (Shea *et al.* 2005). La reproducción de *C. thoermeri* es solo sexual, ya sea por autopolinización o polinización cruzada (Warwick & Thompson 1989; Jessep 1990). En el NO de la Patagonia, el polen y néctar es consumido por polinizadores locales (Morales & Aizen 2002); *C. thoermeri* es visitado principalmente por el abejorro exótico *Bombus terrestris* (observación personal). La visita de *B. terrestris* no incrementa la producción de semillas, sugiriendo que *C. thoermeri* se reproduce eficazmente por autopolinización (Chalcoff *et al.* 2019). Este último dato es importante, porque descarta un posible efecto indirecto de las hormigas ordeñadoras sobre *C. thoermeri* por medio de la disuasión de polinizadores (ver Fig. 1.2b). Las semillas de *C. thoermeri* tienen una estructura especializada (*pappus*) que les facilita ser dispersadas por el viento. Las semillas pueden germinar directamente o pasar a formar parte de un banco de semillas que puede durar ~10 años (Shea & Kelly 1998).

Pulgones

En el NO de la Patagonia, *Carduus thoermeri* es atacado por el pulgón *Brachycaudus cardui* (L.) (n.v., pulgón del cardo; Aphididae: Macrosiphini; Fig. 1.3f). *Brachycaudus cardui* es pequeño (1.9 a 2.3 mm de largo) y de color verde intenso. Se lo encuentra en tallos y hojas de plantas de la familia Asteraceae en el hemisferio norte (Europa, Asia, África del Norte y América del Norte; Blackman & Eastop 2006). Se desconoce cómo fue introducido en la Argentina. Además del NO de la Patagonia, también se lo ha reportado en la zona central de Argentina atacando a cardos de la especie *Cynara cardunculus* (Delfino & Buffá 1996) y en San Juan atacando a árboles frutales del

género *Prunus* (Marini *et al.* 2015). Su presencia en *C. thoermeri* disminuye la producción de semillas (Chalcoff *et al.* 2019). Además, excreta melaza que es atractiva para las hormigas, por lo que es activamente atendido por hormigas ordeñadoras. La melaza es un líquido pegajoso rico en azúcares y excretado por los pulgones al alimentarse de la savia de las plantas. Algunas especies de pulgones, como *B. cardui*, establecen relaciones mutualistas con las hormigas, y otras especies de pulgones no interactúan con las hormigas.

Carduus thoermeri también es atacado por pulgones de la especie *Uroleucon aeneum* y *Capitophorus* sp. Estas dos especies no son atendidas por hormigas (observación personal). De aquí en adelante cuando mencione a los pulgones de *C. thoermeri* me estaré refiriendo exclusivamente a *B. cardui* ya que es la especie atendida por hormigas.

Hormigas ordeñadoras

Carduus thoermeri es visitado por varias especies de hormigas ordeñadoras (Lescano & Farji-Brener 2011). En mis áreas de estudio, encontré tres especies de hormigas atendiendo a *B. cardui* sobre *C. thoermeri*: *Dorymyrmer tener* (Mayr 1868) (Dolichoderinae; Fig. 1.3c), *Camponotus distinguendus* (Spinola 1851) (Formicinae; Fig. 1.3d), y *D. richteri* (Forel 1911) (Dolichoderinae; Fig. 1.3e). Estas tres especies anidan en el suelo y/o debajo de las piedras, pero nunca en los cardos. Por lo general, una especie de hormiga monopoliza a las plantas de *C. thoermeri* infestadas de pulgones (Lescano & Farji-Brener 2011; Lescano *et al.* 2014).

El género *Dorymyrmex* comprende especies que son numéricamente dominantes en la estepa patagónica (Farji-Brener *et al.* 2002; Sackmann & Farji-Brener 2006). En particular, la especie *D. tener* (Fig. 1.3c) es la más abundante en el NO de la estepa

Patagónica; *D. tener* es muy abundante en sitios disturbados, como áreas que fueron incendiadas, baldíos, y bordes de rutas (Farji-Brener *et al.* 2002). Como en estos sitios también prospera el cardo *C. thoermeri*, entonces es muy común encontrar nidos de *D. tener* dentro de los parches de cardos. *Dorymyrmex richteri* (Fig. 1.3e) es la segunda especie del género más abundante en el NO de la Patagonia (Farji-Brener *et al.* 2002). La especie *C. distinguendus* se encuentra principalmente en matorrales Patagónicos, donde se alimenta de insectos sobre árboles o arbustos (Farji-Brener *et al.* 2002), pero también es común encontrarla en la estepa Patagónica sobre los cardos ordeñando al pulgón *B. cardui* (Fig. 1.3d).

Enemigos de pulgones

En el NO de la Patagonia, los enemigos naturales de *B. cardui* son principalmente mariquitas de las especies *Hippodamia variegata* (Goeze 1777; Fig. 1.3g), *Cycloneda germainii* (Fig. 1.3h), *Eriopis* sp. (Fig. 1.3i), y *Harmonia axyridis* (Pallas 1772; Fig. 1.3j), y larvas de sírfido (Fig. 1.3k). Estos enemigos naturales del pulgón *B. cardui* los identifiqué en el desarrollo de la presente tesis.

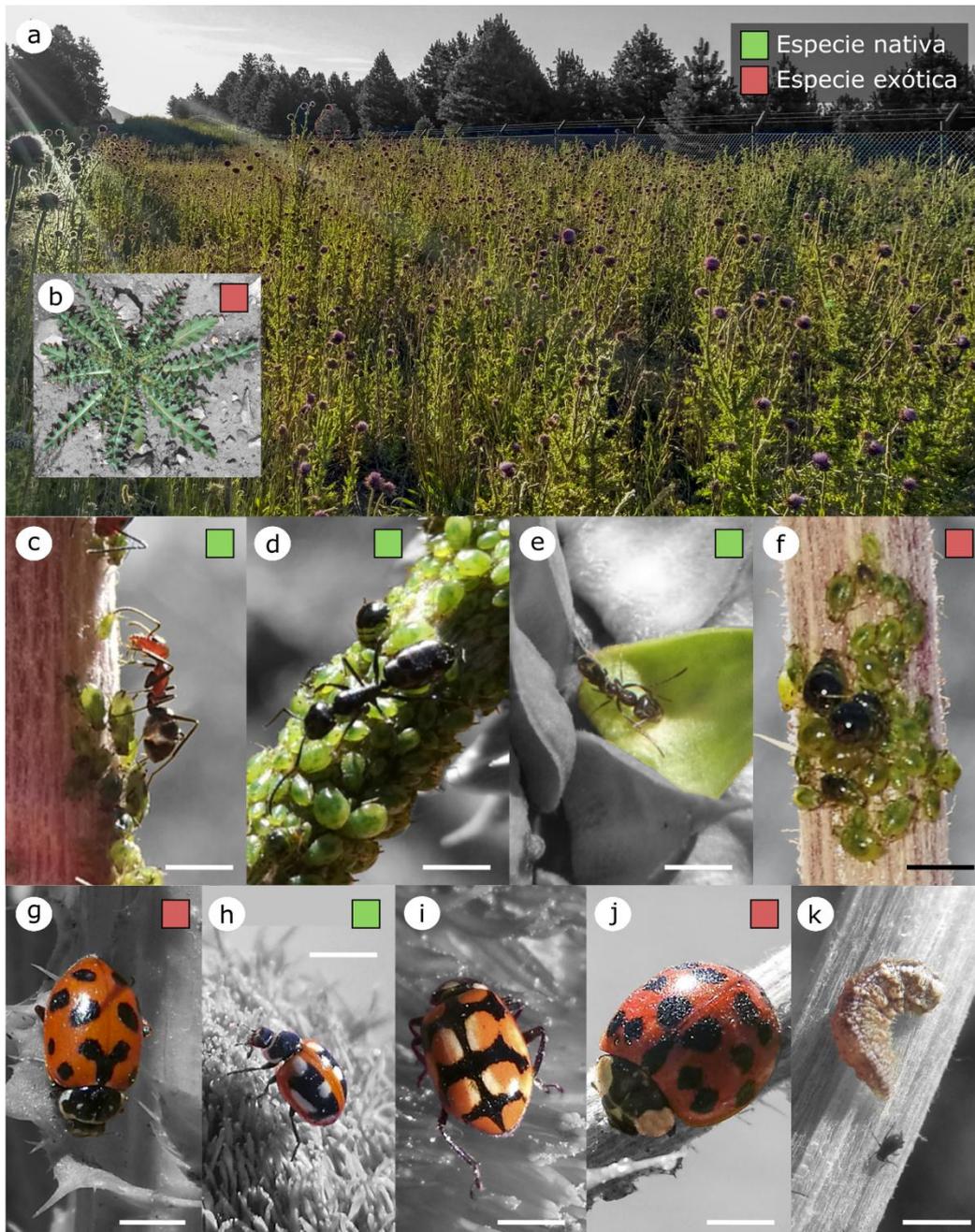


FIG. 1.3 Sistema de estudio. Parche de *Carduus thomeri* con individuos en fase a) reproductiva y b) vegetativa. Hormigas ordeñadoras de pulgones nativas: c) *Dorymyrmex tener*, d) *Camponotus distinguendus*, y e) *D. richteri*. Pulgones: f) *Brachycaudus cardui*. Depredadores de pulgones: g) *Hippodamia variegata*, h) *Cycloneda germainii*, i) *Eriopis* sp., j) *Harmonia axyridis* y k) larvas de sírfidos. Barra de escala: 2 mm. Créditos de las fotos: AM Devegili

Controlador biológico de cardos

Rhinocyllus conicus (Coleoptera: Curculionidae) es un curculiónido nativo de Europa y Asia occidental reconocido por su uso como controlador biológico de especies invasoras

del género *Carduus* (Boldt & Kok 1982). Este curculiónido fue introducido en Canadá y Estados Unidos en la década de 1970, donde tuvo un éxito moderado en el control de la expansión de cardos exóticos (Kok *et al.* 1984; Louda 2000). Años luego de su introducción, se generó una gran polémica en torno a su uso como controlador biológico por sus efectos no deseados sobre cardos nativos (Louda 2000; Louda *et al.* 2003; Rand & Louda 2004). En Norteamérica, los ataques no selectivos de *R. conicus* incluyen especies nativas amenazadas y en peligro de extinción (Louda *et al.* 2005; Park & Thompson 2021).

El Instituto Nacional de Tecnología agropecuaria (INTA) lo introdujo en distintos puntos de Argentina en la década de 1980 para controlar a los cardos *Carduus thoermeri* y *Carduus acanthoides* (Enrique de Briano *et al.* 2013). Los adultos de *R. conicus* colonizan a individuos reproductivos de *C. thoermeri* donde se aparean y ponen cartuchos con huevos sobre las inflorescencias (Fig. 1.4a, b). Los huevos eclosionan liberando larvas que penetran la inflorescencia; dentro de la inflorescencia las larvas se alimentan del tejido del capítulo (Zwölfer & Harris 1984; Fig. 1.4c). El adulto de *R. conicus* también se alimenta de la parte vegetativa del cardo pero dicho daño no es un gran peligro para la planta huésped. Por otro lado, la larva puede ocasionar un gran daño a los cardos al consumir directamente el tejido circundante a las semillas (Sheppard *et al.* 1994). Las fases de larva y pupa se desarrollan todas dentro del capítulo. Luego de la pupación, los adultos emergen justo en el momento de la senescencia del cardo (Fig. 1.4d). Los adultos de *R. conicus* pueden encontrarse tanto en cardos sin pulgones como en cardos infestados de pulgones. Las hormigas ordeñadoras visitan cardos durante el tiempo en que los adultos de *R. conicus* se alimentan, se aparean, y ovipositan sobre los cardos (observación personal). Las hormigas ordeñadoras no atacan ni dañan los cartuchos de huevos de *R. conicus*; asimismo, las hormigas son incapaces de entrar a las

inflorescencias del cardo por lo que no afectan a las larvas de *R. conicus*, que pupan y completan su desarrollo dentro de la inflorescencia (observaciones personales).

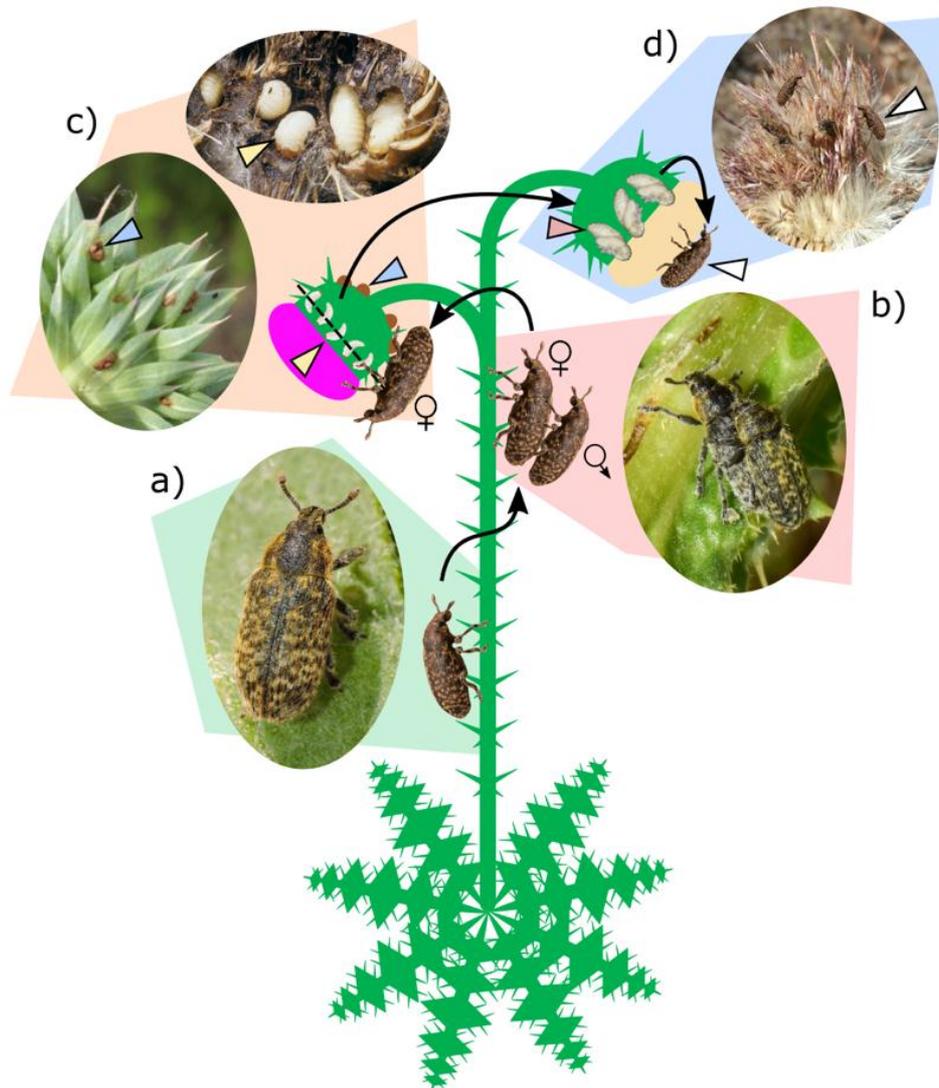


FIG. 1.4 Ciclo de vida de *Rhinocyllus conicus* sobre el cardo *Carduus thoermeri* en el noroeste de la Patagonia. a) En la primavera adultos de *R. conicus* suben a los cardos luego de hibernar en la vegetación circundante. b) A mediados de la primavera los adultos de *R. conicus* copulan sobre los cardos. c) Hacia el final de la primavera las hembras de *R. conicus* oviponen sobre las brácteas de las inflorescencias del cardo. Los huevos están dentro de cartuchos (ver triángulos celestes). Las larvas (ver triángulos amarillos) salen de los huevos y penetran en las inflorescencias de los cardos. Allí se alimentan del tejido del capítulo y luego comienzan a pupar. d) Hacia el final del verano los nuevos adultos abandonan las inflorescencias de los cardos. Esta etapa coincide con la senescencia del cardo. Las hormigas ordeñadoras pueden interactuar con los adultos de *R. conicus* durante a), b), y c). En c) las hormigas ordeñadoras no dañan los cartuchos de huevos de *R. conicus*. Las hormigas ordeñadoras son incapaces de penetrar en las inflorescencias de cardo, por lo tanto, no afectan a las larvas y pupas de *R. conicus* ni afectan la emergencia de nuevos adultos de las inflorescencias (c y d). Créditos de las fotos: AM Devegili

REFERENCIAS

- Auclair JL (1963) Aphid feeding and nutrition. *Ann Rev Entomol* 8: 439–490
doi:10.1146/annurev.en.08.010163.002255
- Beattie AJ (1985) *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press, United Kingdom
- Beattie A, Hughes L (2002) Ant–plant interactions. En: Herrera CM, Pellmyr O (eds) *Plant–animal interactions: an evolutionary approach*. Wiley-Blackwell, Estados Unidos de América, pp 211–236
- Beattie A (2006) The evolution of ant pollination systems. *Bot Jahrb Syst* 127:43–55
doi:10.1127/0006-8152/2006/0127-0043
- Blackman RL, Eastop VF (2006) *Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs*. John Wiley & Sons, Chichester
- Bleil R, Blüthgen N, Junker RR (2011) Ant-plant mutualism in Hawai'i? Invasive ants reduce flower parasitism but also exploit floral nectar of the endemic shrub *Vaccinium reticulatum* (Ericaceae). *Pac Sci* 65:291–300 doi:10.2984/65.3.291
- Boldt PE, Kok LT (1982) Bibliography of *Rhinocyllus conicus* froel. (coleoptera: curculionidae), an introduced weevil for the biological control of *Carduus* and *Silybum* thistles. *Bull Ecol Soc Am* 28:355–60 doi:10.1093/besa/28.4.355
- Bronstein JL (2015) *Mutualism*. Oxford University Press, Estados Unidos de América
- Bruna EM, Izzo TJ, Inouye BD, Vasconcelos HL (2014) Effect of mutualist partner identity on plant demography. *Ecology* 95:3237–3243 doi:10.1890/14-0481.1
- Buckley R (1987) Ant-plant-homopteran interactions. *Adv Ecol Res* 16:53–85
doi:10.1016/S0065-2504(08)60087-2
- Burns JH, Pardini EA, Schutzenhofer MR, Chung YA, Seidler KJ, Knight TM (2013) Greater sexual reproduction contributes to differences in demography of invasive

- plants and their noninvasive relatives. *Ecology* 94:995–1004 doi:10.1890/12-1310.1
- Canedo-Júnior EO, Santiago GS, Ribas CR, Zurlo LF, Cuissi RG, Souza B, ..., Silva E (2018) The effect size of aphid-tending ants in an agricultural tri-trophic system. *J Appl Entomol* 142:349–358 doi:10.1111/jen.12475
- Catford JA, Jansson R, Nilsson C (2009) Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Divers Distrib* 15:22–40 doi:10.1111/j.1472-4642.2008.00521.x
- Chalcoff VR, Lescano MN, Devegili AM (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. *Plant Ecol* 220:125–34 doi:10.1007/s11258-019-00907-2
- Clark RE, Singer MS (2018) Differences in aggressive behaviors between two ant species determine the ecological consequences of a facultative food-for-protection mutualism. *J Insect Behav* 31:510–522 doi:10.1007/s10905-018-9695-8
- Clark RE, Gutierrez Illan J, Comerford MS, Singer MS (2019). Keystone mutualism influences forest tree growth at a landscape scale. *Ecol Lett* 22:1599–1607 doi:10.1111/ele.13352
- Conti L, Block S, Parepa M, Münkemüller T, Thuiller W, Acosta AT, ..., Moser D (2018) Functional trait differences and trait plasticity mediate biotic resistance to potential plant invaders. *J Ecol* 106: 1607–1620 doi:10.1111/1365-2745.12928
- Corrêa MM, Silva PS, Wirth R, Tabarelli M, Leal IR (2010) How leaf-cutting ants impact forests: drastic nest effects on light environment and plant assemblages. *Oecologia* 162:103 doi:10.1007/s00442-009-1436-4
- Correia M, Montesinos D, French K, Rodríguez-Echeverría S (2016) Evidence for enemy release and increased seed production and size for two invasive Australian

- acacias. *J Ecol* 104:1391–1399 doi:10.1111/1365-2745.12612
- Costa AN, Vasconcelos HL, Vieira-Neto EH, Bruna EM (2008) Do herbivores exert top-down effects in Neotropical savannas? Estimates of biomass consumption by leaf-cutter ants. *J Veg Sci* 19:849–854 doi:10.3170/2008-8-18461
- Cripps MG, Edwards GR, Bourdôt GW, Saville DJ, Hinz HL, Fowler SV (2010) Enemy release does not increase performance of *Cirsium arvense* in New Zealand. *Plant Ecol* 209:123–134 doi:10.1007/s11258-010-9728-7
- Davis M, Pelsor M (2001) Experimental support for a resource-based mechanistic model of invasibility. *Ecol Lett* 4:421–428 doi:10.1046/j.1461-0248.2001.00246.x
- Delfino MA, Buffá L (1996). Asociaciones hormigas-áfidos-plantas en La Argentina. *Revista Peruana de Entomología* 39:81–84
- Desrochers AM, Bain JF, Warwick SI (1988) THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS.: 89. *Carduus Nutans* L. and *Carduus Acanthoides* L. *Can J Plant Sci* 68: 1053–68 DOI: 10.4141/cjps88-126
- De Vega C, Herrera CM, Dötterl S (2014) Floral volatiles play a key role in specialized ant pollination. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 16:32–42 doi: 10.1016/j.ppees.2013.11.002
- Devegili AM, Chalcoff VR (2020) Nectar shortage caused by aphids may reduce seed output via pollination interference. *Oecologia* 194:321–332 doi:10.1007/s00442-020-04712-x
- Dimitri MJ (1962) La Flora Andino-Patagónica. In: *Anales de Parques Nacionales*, 1–115. SAGN, Direccion Nacional de PN, Buenos Aires
- Dussutour A, Simpson SJ (2008) Carbohydrate regulation in relation to colony growth in ants. *J Exp Biol* 211:2224–2232 doi:10.1242/jeb.017509
- Durak R, Węgrzyn E, Leniowski K (2016) When a little means a lot—slight daily

- cleaning is crucial for obligatory ant-tended aphids. *Ethol Ecol Evol* 28:20–29
doi:10.1080/03949370.2014.952340
- Ehrenfeld JG (2010) Ecosystem consequences of biological invasions. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 41:59–80 doi:10.1146/annurev-ecolsys-102209-144650
- Elton CS (1958) *The ecology of invasions by animals and plants*. Springer Nature, Estados Unidos de América
- Enrique de Briano AE, Acciaresi HA, Briano JA (2013) Establishment, dispersal, and prevalence of *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae), a biological control agent of thistles, *Carduus* species (Asteraceae), in Argentina, with experimental information on its damage. *Biol Control* 67:186–93
doi:10.1016/j.biocontrol.2013.07.009
- Falcón W, Ackerman JD, Tremblay RL (2017) Quantifying how acquired interactions with native and invasive insects influence population growth rates of a non-indigenous plant. *Biol Invasions* 19:895–911 doi:10.1007/s10530-016-1318-8
- Farji-Brener AG, Illes AE (2000) Do leaf-cutting ant nests make "bottom-up" gaps in neotropical rain forests?: a critical review of the evidence. *Ecol Lett* 3:219–227
doi:10.1046/j.1461-0248.2000.00134.x
- Farji-Brener AG, Corley JC, Bettinelli J (2002) The effects of fire on ant communities in north-western Patagonia: the importance of habitat structure and regional context. *Divers Distrib* 8:235–243 doi:10.1046/j.1472-4642.2002.00133.x
- Farji-Brener AG, Ghermandi L (2004) Seedling recruitment in the semi-arid Patagonian steppe: facilitative effects of refuse dumps of leaf-cutting ants. *J Veg Sci* 15:823–830 doi:10.1658/1100-9233(2004)015[0823:SRIASP]2.0.CO;2
- Farji-Brener AG, Ghermandi L (2008) Leaf-cutting ant nests near roads increase fitness of exotic plant species in natural protected areas. *Proc R Soc B* 275:1431-1440

doi:10.1098/rspb.2008.0154

Flatt T, Weisser WW (2000) The effects of mutualistic ants on aphid life history traits.

Ecology 81:3522–3529

doi:10.1890/00129658(2000)081[3522:TEOMAO]2.0.CO;2

Jelbert K, Buss D, McDonald J, Townley S, Franco M, Stott I, ..., Silk M (2019)

Demographic amplification is a predictor of invasiveness among plants. Nat

Commun 10:1–6 doi:10.1038/s41467-019-13556-w

Gelbard J, Harrison S (2005) Invasibility of roadless grasslands: an experimental study

of yellow starthistle. Ecol Appl 15:1570–1580 doi:10.1890/03-5362

Going BM, Hillerislambers J, Levine JM (2009) Abiotic and biotic resistance to grass

invasion in serpentine annual plant communities. Oecologia 159:839–847

doi:10.1007/s00442-008-1264-y

González FG, Santamaría L, Corlett RT, Rodríguez-Gironés MA (2013) Flowers

attract weaver ants that deter less effective pollinators. J Ecol 101:78–85

doi:10.1111/1365-2745.12006

Grover CD, Kay AD, Monson JA, Marsh TC, Holway DA (2007) Linking nutrition and

behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in

Argentine ants. Proc R Soc B 274:2951–2957 doi:10.1098/rspb.2007.1065

Ho CT, Khoo KC (1997) Partners in biological control of cocoa pests: mutualism

between *Dolichoderus thoracicus* (Hymenoptera: Formicidae) and *Cataenococcus*

hispidus (Hemiptera: Pseudococcidae). Bull Entomol Res 87:461–470

doi:10.1017/S0007485300041328

Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, Estados Unidos de

América

Holm L, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL (1979) A geographical atlas of world

- weeds. New York: John Wiley & Sons
- Hulme PE (2009) Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *J Appl Ecol* 46:10–18 doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01600.x
- Ibarra-Isassi J, Oliveira PS (2018) Indirect effects of mutualism: ant–treehopper associations deter pollinators and reduce reproduction in a tropical shrub. *Oecologia* 186:691–701 doi:10.1007/s00442-017-4045-7
- Jessep CT (1990) Aspects of the biology of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zeal J Agr Res* 33:173–183 doi:10.1080/00288233.1990.10430675
- Kaspari M, O’Donnell S (2003) High rates of army ant raids in the Neotropics and implications for ant colony and community structure. *Evol Ecol Res* 5:933–939
- Keane R, Crawley M (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol Evol* 17:164–170 doi:10.1016/S0169-5347(02)02499-0
- Kennedy TA, Naeem S, Howe KM, Knops JM, Tilman D, Reich P (2002) Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature* 417:636–638 doi:10.1038/nature00776
- Kok LT, Pienkowski RL, Delfosse ES (1984) Biological control of musk thistle by *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae) in Virginia from 1969 to 1980. In: *Proc VI Int Symp Biol Contr Weeds* (Vol. 19, p. 25)
- Lach L, Parr C, Abbott K (Eds.) (2010) *Ant ecology*. Oxford University Press, United Kingdom
- Lavorel S, Prieur-Richard AH, Grigulis K (1999) Invasibility and diversity of plant communities: from patterns to processes. *Divers Distrib* 5:41–49 doi:10.1046/j.1472-4642.1999.00034.x
- Lescano MN, Farji-Brener AG (2011) Exotic thistles increase native ant abundance

- through the maintenance of enhanced aphid populations. *Ecol Res* 26:827–834
doi:10.1007/s11284-011-0842-3
- Lescano MN, Farji-Brener AG, Gianoli E, Carlo TA (2012) Bottom-up effects may not reach the top: the influence of ant–aphid interactions on the spread of soil disturbances through trophic chains. *Proc Royal Soc B* 279:3779–3787
doi:10.1098/rspb.2012.1066
- Lescano MN, Farji-Brener AG, Gianoli E (2014) Nocturnal resource defence in aphid-tending ants of northern Patagonia. *Ecol Entomol* 39:203–9 doi:10.1111/een.12081
- LeVan KE, Holway DA (2015) Ant–aphid interactions increase ant floral visitation and reduce plant reproduction via decreased pollinator visitation. *Ecology* 96:1620–1630 doi:10.1890/14-0058.1
- LeVan KE, Barney SK, Rankin EEW (2018) Introduced ants reduce interaction diversity in a multi-species, ant–aphid mutualism. *Oikos* 127:1132–1141
doi:10.1111/oik.05043
- Levine J, Adler P, Yelenik S (2004) A meta analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecol Lett* 7:975–989 doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x
- Liao C, Peng R, Luo Y, Zhou X, Wu X, Fang C, ..., Li B (2008). Altered ecosystem carbon and nitrogen cycles by plant invasion: a meta-analysis. *New Phytol* 177:706–714 doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02290.x
- Lockwood J, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagules pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol Evol* 20:223–238
doi:10.1016/j.tree.2005.02.004
- Louda SM (2000) Negative ecological effects of the musk thistle biological control agent, *Rhinocyllus conicus*. In: Follett *et al.* (eds) *Nontarget effects of biological control*, pp. 215–243. Springer, USA

- Louda SM, Arnett AE, Rand TA, Russell FL (2003) Invasiveness of some biological control insects and adequacy of their ecological risk assessment and regulation. *Conserv Biol* 17:73–82 doi:10.1046/j.1523-1739.2003.02020.x
- Louda SM, Rand TA, Arnett AE, McClay AS, Shea K, McEachern AK (2005) Evaluation of ecological risk to populations of a threatened plant from an invasive biocontrol insect. *Ecol Appl* 15:234–249 doi:10.1890/03-5212
- Mack RN (1996) Predicting the identity and fate of plant invaders: emergent and emerging approaches. *Biological Conserv* 78:107–121 doi:10.1016/0006-3207(96)00021-3
- Mack MC, D'Antonio CM (1998) Impacts of biological invasions on disturbance regimes. *Trends Ecol Evol* 13:195–198 doi:10.1016/S0169-5347(97)01286-X
- MacMahon JA, Mull JF, Crist TO (2000) Harvester ants (*Pogonomyrmex* spp.): their community and ecosystem influences. *Annu Rev Ecol Syst* 31:265–291 doi:10.1146/annurev.ecolsys.31.1.265
- Marini DB, Rossini MN, Dal Zotto A, Porcel LB, Arroyo LE (2015) Frutales de carozo: *Plum pox virus* (sharka). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361–373 doi:10.1034/j.1600-0706.2001.950301.x
- McCary MA, Mores R, Farfan MA, Wise DH (2016) Invasive plants have different effects on trophic structure of green and brown food webs in terrestrial ecosystems: A meta-analysis. *Ecol Lett* 19:328–335 doi:10.1111/ele.12562
- McGeoch MA, Butchart SH, Spear D, Marais E, Kleynhans EJ, Symes A, ..., Hoffmann M (2010) Global indicators of biological invasion: species numbers, biodiversity impact and policy responses. *Divers Distrib* 16: 95–108 doi:10.1111/j.1472-

4642.2009.00633.x

Messina FJ (1981) Plant protection as a consequence of an ant-membracid mutualism:

interactions on goldenrod (*Solidago* sp.). *Ecology* 62:1433–40 doi:

10.2307/1941499

Meyer ST, Leal IR, Tabarelli M, Wirth R (2011) Ecosystem engineering by leaf-cutting

ants: nests of *Atta cephalotes* drastically alter forest structure and microclimate.

Ecol Entomol 36:14–24 doi:10.1111/j.1365-2311.2010.01241.x

Mitchell CE, Agrawal AA, Bever JD, Gilbert GS, Hufbauer RA, Klironomos JN, ...,

Seabloom EW (2006) Biotic interactions and plant invasions. *Ecol Lett* 9:726–740

doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00908.x

Moksnes PO, Gullström M, Tryman K, Baden S (2008) Trophic cascades in a temperate

seagrass community. *Oikos* 117:763–777 doi:10.1111/j.0030-1299.2008.16521.x

Mooney KA, Mandal K (2010) Competition hierarchies among ants and predation by

birds jointly determine the strength of multi-species ant–aphid mutualisms. *Oikos*

119:874–882 doi:10.1111/j.1600-0706.2009.18163.x

Morales CL, Aizen MA (2002) Does invasion of exotic plants promote invasion of

exotic flower visitors? A case study from the temperate forests of the southern

Andes. *Biol Invasions* 4:87–100 doi:10.1023/A:1020513012689

Moran MD, Rooney TP, Hurd LE (1996) Top-down cascade from a bitrophic predator

in an old-field community. *Ecology* 77:2219–2227 doi:10.2307/2265715

Mothershead K, Marquis RJ (2000) Fitness impacts of herbivory through indirect

effects on plant–pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81:30–

40 doi:10.1890/0012-9658(2000)081[0030:FIOHTI]2.0.CO;2

Ness JH, Morris WF, Bronstein JL (2006) Integrating quality and quantity of

mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*

- 87:912–21 doi:10.1890/0012-9658(2006)87[912:iqaqom]2.0.co;2
- Nielsen C, Agrawal AA, Hajek AE (2010). Ants defend aphids against lethal disease. *Biol Lett* 6:205–208 doi:10.1098/rsbl.2009.0743
- Novgorodova TA (2005) Ant-aphid interactions in multispecies ant communities: Some ecological and ethological aspects. *Eur J Entomol* 102:495
doi:10.14411/eje.2005.071
- Offenberg J (2001) Balancing between mutualism and exploitation: the symbiotic interaction between *Lasius* ants and aphids. *Behav Ecol Sociobiol* 49:304–310
doi:10.1007/s002650000303
- Ortega-Ramos PA, Mezquida ET, Acebes P (2020) Ants indirectly reduce the reproductive performance of a leafless shrub by benefiting aphids through predator deterrence. *Plant Ecol* 221:91–101 doi:10.1007/s11258-019-00995-0
- Palmer TM, Doak DF, Stanton ML, Bronstein JL, Kiers ET, Young TP, ..., Pringle RM (2010) Synergy of multiple partners, including freeloaders, increases host fitness in a multispecies mutualism. *Proc Natl Acad Sci* 107:17234–17239
doi:10.1073/pnas.1006872107
- Park I, Thompson DC (2021) Host recognition by *Rhinocyllus conicus* of floral scents from invasive and threatened thistles. *Biol Invasions* 23:1663–1668
doi:10.1007/s10530-021-02477-9
- Ramula S, Knight TM, Burns JH, Buckley YM (2008) General guidelines for invasive plant management based on comparative demography of invasive and native plant populations. *J Appl Ecol* 45:1124–33 doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01502.x
- Rand TA, Louda SM (2004) Exotic weed invasion increases the susceptibility of native plants to attack by a biocontrol herbivore. *Ecology* 85:1548–1554 doi: 10.1890/03-3067

- Renault CK, Buffa LM, Delfino MA (2005) An aphid-ant interaction: effects on different trophic levels. *Ecol Res* 20:71–74 doi:10.1007/s11284-004-0015-8
- Ricciardi A, Hoopes MF, Marchetti MP, Lockwood JL (2013) Progress toward understanding the ecological impacts of nonnative species. *Ecol Monogr* 83:263–82 doi:10.1890/13-0183.1
- Richards C, Bossdorf O, Muth N, Gurevitch J, Pigliucci M (2006) Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecol Lett* 9:981–993 doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00950.x
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ, Rejmánek M (2000) Plant invasions—the role of mutualisms. *Biol Rev* 75:65–93 doi:10.1111/j.1469-185X.1999.tb00041.x
- Rico-Gray V, Oliveira PS (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. University of Chicago Press, Estados Unidos de América
- Rosumek FB, Silveira FAO, Neves FS, Barbosa NPU, Diniz L, Oki Y, Pezzini F, Fernandes GW, Cornelissen T (2009) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537–49 doi:10.1007/s00442-009-1309-x
- Rusman, Q., Karssemeijer, P. N., Lucas-Barbosa, D., & Poelman, E. H. (2019). Settling on leaves or flowers: herbivore feeding site determines the outcome of indirect interactions between herbivores and pollinators. *Oecologia* 191:887–896 doi:10.1007/s00442-019-04539-1
- Sackmann P, Farji-Brener AG (2006) Effect of fire on ground beetles and ant assemblages along an environmental gradient in NW Patagonia: Does habitat type matter? *Ecoscience* 13:360–71 doi:10.2980/i1195-6860-13-3-360.1
- Sakata H (1994) How an ant decides to prey on or to attend aphids. *Res Popul Ecol*

- 36:45–51 doi:10.1007/BF02515084
- Schierenbeck KA, Mack RN, Sharitz RR (1994) Effects of herbivory on growth and biomass allocation in native and introduced species of *Lonicera*. *Ecology* 75:1661–1672 doi:10.2307/1939626
- Schürch S, Pfunder M, Roy BA (2000) Effects of ants on the reproductive success of *Euphorbia cyparissias* and associated pathogenic rust fungi. *Oikos* 88:6–12 doi:10.1034/j.1600-0706.2000.880102.x
- Shea K, Kelly D (1998) Estimating biocontrol agent impact with matrix models: *Carduus nutans* in New Zealand. *Ecol Appl* 8:824–832 doi:10.1890/1051-0761(1998)008[0824:ebaiwm]2.0.co;2
- Shea K, Kelly D, Sheppard AW, Woodburn TL (2005) Context-dependent biological control of an invasive thistle. *Ecology* 86:3174–81 doi:10.1890/05-0195
- Sheppard AW, Cullen JM, Aeschlimann JP (1994) Predispersal seed predation on *Carduus nutans* (Asteraceae) in southern Europe. *Acta Oecol* 15:529–41
- Simberloff D, Von Holle B (1999) Positive interactions of nonindigenous species: invasional meltdown? *Biol Invasions* 1:21–32 doi:10.1023/A:1010086329619
- Stadler B, Dixon AFG (1998) Costs of ant attendance for aphids. *J Anim Ecol* 454–459 doi:10.1046/j.1365-2656.1998.00209.x
- Stadler B, Dixon AF (2005) Ecology and evolution of aphid-ant interactions. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:345–372 doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.091704.175531
- Stinson KA, Campbell SA, Powell JR, Wolfe BE, Callaway RM, Thelen GC, ..., Klironomos JN (2006) Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting belowground mutualisms. *PLoS Biol* 4:e140 doi:10.1371/journal.pbio.0040140
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants

- and honeydew-producing insects. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:151–164
doi:10.1098/rspb.2006.3701
- Styrsky JD, Eubanks MD (2010) A facultative mutualism between aphids and an invasive ant increases plant reproduction. *Ecol Entomol* 35:190–199
doi:10.1111/j.1365-2311.2009.01172.x
- Takeda S, Kinomura K, Sakurai H (1982) Effects of ant-attendance on the honeydew excretion and larviposition of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch. *Appl Entomol Zool* 17:133–135 doi:10.1303/aez.17.133
- Trager MD, Bhotika S, Hostetler JA, Andrade GV, Rodriguez-Cabal MA, McKeon CS, ..., Bolker BM (2010) Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: a meta-analysis. *PLoS One* 5:e14308 doi:10.1371/journal.pone.0014308
- Traveset A, Richardson DM (2006) Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends Ecol Evol* 21:208–216
doi:10.1016/j.tree.2006.01.006
- Yurkonis KA, Meiners SJ, Wachholder BE (2005) Invasion impacts diversity through altered community dynamics. *J Ecol* 93:1053–1061 doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01029.x
- Van Emden HF, Harrington R (2007) *Aphids as crop pests*. CABInternational, United Kingdom
- Van Oudtshoorn KVR, Van Rooyen MW (2013) *Dispersal biology of desert plants*. Springer Science & Business Media, Germany
- Warwick SI, Thompson BK (1989) The mating system in sympatric populations of *Carduus nutans*, *C. acanthoides* and their hybrid swarms. *Heredity* 63:329–337
doi:10.1038/hdy.1989.106
- Weidenhamer JD, Callaway RM (2010) Direct and indirect effects of invasive plants on

- soil chemistry and ecosystem function. *J Chem Ecol* 36:59–69
doi:10.1007/s10886-009-9735-0
- White EV, Wilson JC, Clarke AR (2006) Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. *Divers Distrib* 12:443–55 doi:10.1111/j.1366-9516.2006.00265.x
- Wootton JT (1994) The nature and consequences of indirect effects in ecological communities. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 443–466
doi:10.1146/annurev.es.25.110194.002303
- Wu D, Zeng L, Lu Y, Xu Y (2014). Effects of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) and its interaction with aphids on the seed productions of mungbean and rapeseed plants. *J Econ Entomol* 107:1758–1764 doi:10.1603/EC14162
- Yao I, Shibao H, Akimoto SI (2000) Costs and benefits of ant attendance to the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. *Oikos* 89:3–10 doi:10.1034/j.1600-0706.2000.890101.x
- Yao I (2014) Costs and constraints in aphid-ant mutualism. *Ecol Res* 29:383–391
doi:10.1007/s11284-014-1151-4
- Zhang S, Zhang Y, Ma K (2012) The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: a meta-analysis. *Basic Appl Ecol* 13:116–124
doi:10.1016/j.baae.2012.02.002

CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN GENERAL

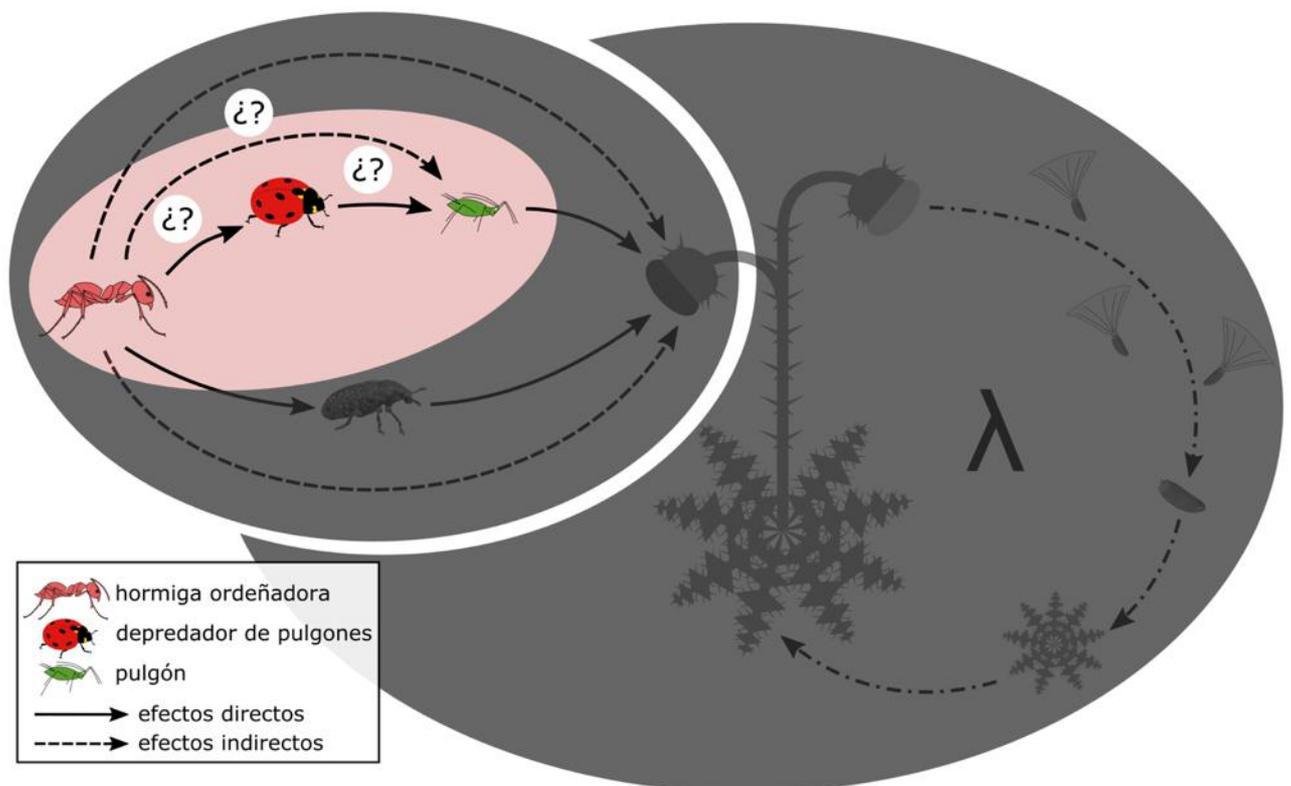
CAPÍTULO 2 – FOCO EN LAS HORMIGAS Y PULGONES: LA HORMIGA MÁS

AGRESIVA INCREMENTA LA ABUNDANCIA DE PULGONES

CAPITULO 3 – FOCO EN LA ADECUACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 4 – FOCO EN LA POBLACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN GENERAL



RESUMEN

En las interacciones mutualistas las especies intercambian servicios que varían en su calidad y cantidad. En la interacción entre hormigas y pulgones, usualmente varias especies de hormigas defienden a los pulgones a cambio de melaza. Las especies de hormigas varían en su agresividad y abundancia, y esto puede hacer que la defensa que éstas proveen a los pulgones varíe en calidad y cantidad. Estudié especies de hormigas ordeñadoras asociadas a una especie de pulgón. Para ello, muestree plantas (*Carduus thoermeri*) con pulgones (*Brachycaudus cardui*) atendidos por hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, o *D. richteri*). Estimé la abundancia de hormigas sobre las plantas, determiné la agresividad de las especies de hormiga, y estimé el crecimiento de la población de pulgones en plantas patrulladas por cada una de las especies de hormigas. En las plantas con la hormiga más agresiva, determiné la probabilidad de que las hormigas expulsen a los depredadores de pulgones y comprobé si la exclusión de hormigas afecta a la abundancia de los pulgones y sus depredadores. La especie *D. tener* fue la hormiga ordeñadora más abundante y frecuente sobre las plantas. *Dorymyrmex tener* fue además la más agresiva contra los depredadores de pulgones. Las poblaciones de pulgones crecieron más rápido en las plantas con *D. tener* en comparación con las plantas sin hormigas o plantas con *C. distinguendus* o *D. richteri*. *Dorymyrmex tener* expulsó eficazmente a los depredadores de pulgones de las plantas. Cuando excluí a *D. tener*, la densidad de los pulgones disminuyó, mientras que la abundancia de depredadores de pulgones aumentó. Mis resultados sugieren que la calidad y cantidad de defensa de las hormigas (i.e., agresividad y abundancia) es un factor clave en la dinámica poblacional de los pulgones. Este estudio destaca la importancia de la variabilidad en la calidad y cantidad de los servicios compartidos para la adecuación de las especies mutualistas.

PALABRAS CLAVE: Crecimiento poblacional, Depredadores de pulgones, Hormigas ordeñadoras, Mutualismo, Protección, Pulgones

ABSTRACT

In mutualistic interactions, species exchange services that vary in quality and quantity. In ant-aphid mutualistic interaction, usually several ant species defend the aphids in exchange for honeydew. Ant species vary in their aggressiveness and abundance making the defense provided by ants vary in quality and quantity. I studied an aphid species (*Brachycaudus cardui*) and its associated ant guild (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, *D. richteri*) to address whether intra-guild defense variation against aphid natural enemies explains aphid performance on plants (*Carduus thoermeri*). I surveyed plants with natural abundances of aphids associated with different ant species and estimated aphid population growth. I conducted confrontation experiments between ant species and aphid natural enemies (ladybugs and hoverfly larvae). In plants patrolled by the most aggressive ant species, I determined the ant's probability of expelling aphid natural enemies and tested whether ant exclusion affects the abundance of aphids and their natural enemies. The ant *D. tener* was the most abundant and frequent species on plants and the most aggressive against aphid natural enemies. Aphid populations grew faster on plants patrolled by *D. tener* compared to plants patrolled by *Camponotus distinguendus* or *D. richteri*. Field experiments confirmed that *D. tener* effectively expels aphid natural enemies from plants. When *D. tener* was excluded, the density of aphids decreased, while the abundance of aphid natural enemies increased. The disruption of aphid predation by aggressive and numerically dominant ant species is a determinant of aphid population dynamics. This study illustrates the importance of considering intra-guild service variation to better understand multi-partner mutualisms.

KEYWORDS: Aphids, Aphids' natural enemies, Aphid-tending ants, Mutualism,
Population growth, Protection

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente se considera a los mutualismos como una interacción de a pares en la que dos especies intercambian servicios que aumentan su adecuación (Bronstein 2015). Sin embargo, una definición más realista considera a los mutualismos como una interacción entre gremios, donde especies que cumplen un mismo rol ecológico intercambian servicios beneficiosos (Stanton 2003). Esto último da lugar a que haya variabilidad en la calidad y/o cantidad de los servicios mutualistas compartidos entre especies (Stanton 2003; Palmer *et al.* 2015). La variabilidad en los servicios mutualistas se ha reportado en interacciones como la polinización (Herrera 1987, 1989; Morris 2003; Madjidian *et al.* 2008), dispersión de semillas (Schupp 1993; Ness *et al.* 2006; Brodie *et al.* 2009), y la defensa a cambio de alimento (Rico-Gray & Thien 1989; Del-Claro & Oliveira 2000; Stanton 2003; Clark & Singer 2018). Esta variabilidad es crítica ya que puede provocar cambios en la adecuación de las especies (e.g., Ford *et al.* 2015; Palmer *et al.* 2010). Así, para comprender la importancia ecológica de los mutualismos en los ecosistemas es clave entender si la variabilidad en la calidad y/o cantidad del servicio mutualista afecta a la interacción.

Las interacciones bióticas defensivas son modelos ideales para estudiar si la variabilidad en la calidad y/o cantidad de los servicios impacta en la adecuación de los socios mutualistas. En primer lugar, las interacciones de defensa suelen ser facultativas y generalizadas, lo que permite examinar los servicios de defensa de más de una especie a lo largo del tiempo y el espacio (Pringle & Gordon 2013; Clark & Singer 2018). En segundo lugar, la calidad y/o cantidad de la defensa suele variar dentro del grupo de especies protectoras (Ness *et al.* 2006; Miller 2007; Clark & Singer 2018) por lo que varía su impacto sobre la adecuación de las especies protegidas. En tercer lugar, las características asociadas a la calidad y cantidad de la protección (por ejemplo, la

agresividad, la abundancia, y la frecuencia) son fáciles de medir y factibles de manipular en experimentos a campo (Ness *et al.* 2006; Detrain *et al.* 2017). Por último, la adecuación de las especies protegidas varía dependiendo de qué especies provean el servicio de defensa y del contexto en que se desarrolla la interacción (Bronstein 1994; Ness *et al.* 2006; Palmer *et al.* 2010). Dentro de este tipo de interacciones defensivas, se destacan las asociaciones entre hormigas, plantas, y hemípteros.

Los mutualismos de defensa a cambio de alimento son muy frecuentes en la naturaleza y pueden ser "interacciones clave" en las comunidades (Styrsky & Eubanks 2007; Zvereva *et al.* 2010; Clark *et al.* 2019). Las hormigas ordeñadoras de pulgones protegen a los pulgones frente a sus enemigos naturales y, a cambio, los pulgones les ofrecen a las hormigas alimento. Los pulgones son herbívoros succionadores de savia que viven sobre las plantas y que excretan gotas de melaza. La melaza es una sustancia muy rica en carbohidratos. Esta melaza contribuye a sustentar la actividad y el crecimiento de las colonias de hormigas (Shik *et al.* 2014; Wills *et al.* 2015; Wittman *et al.* 2018). Durante la recolección de la melaza, las hormigas permanecen cerca de las colonias de pulgones proporcionándoles protección contra sus enemigos naturales (Stadler & Dixon 2008). La interacción hormiga-pulgón es generalizada por lo que una especie de pulgón suele ser atendido por más de una especie de hormiga (Ness *et al.* 2006; Mooney & Mandal 2010; Senft *et al.* 2017). Esto posibilita a que haya especies de hormigas que sean excelentes protectoras de pulgones, otras que no sean tan buenas protectoras, y otras que directamente no protejan a los pulgones y se beneficien igualmente de la melaza (Chamberlain & Holland 2009; Clark & Singer 2018). En este escenario de múltiples socios que varían en la calidad y/o cantidad de servicio, pueden ocurrir dos formas de mutualismos. Por un lado, el mutualismo uniformemente difuso (*evenly diffuse mutualism*) ocurre si todas las especies de hormigas brindan un mismo servicio

de defensa a los pulgones y el resultado de dicha defensa es igual para la adecuación de los pulgones; esto implica que haya redundancia ecológica. Por otro lado, el mutualismo heterogéneamente difuso (*unevenly diffuse mutualism*) ocurre si una –o unas pocas– especies de hormigas se destacan por ser las mejores protectoras y monopolizan las plantas con pulgones (e.g., Kaplan & Eubanks 2005; Grover *et al.* 2007). En este último caso, eliminar a una de estas especies clave (*keystone species*) tendría un impacto negativo sobre la interacción mutualista y comunidad de plantas e insectos asociada (New 2017). Entonces, detectar qué tipo de mutualismo se establece en las asociaciones hormiga-pulgón, es importante para preservar los servicios ecosistémicos y conservar las especies.

En el NO de la Patagonia, la planta *Carduus thoermeri* es atacada por el pulgón *Brachycaudus cardui* (L.) (Aphididae: Macrosiphini) (Lescano & Farji-Brener 2011). Este pulgón produce una gran cantidad de melaza por lo que atrae a las plantas a varias especies de hormigas ordeñadoras (Lescano & Farji-Brener 2011). La relación entre *B. cardui* y las hormigas es facultativa y generalizada, lo que resulta en que una planta con pulgones puede atraer a diferentes especies de hormigas (Lescano & Farji-Brener 2011). Las especies de hormigas ordeñadoras son fácilmente distinguibles en el campo (ver Fig. 1.3c-e en CAPÍTULO 2). Los depredadores de pulgones también son abundantes y diversos en la región de estudio (ver Fig. 1.3g-k CAPÍTULO 2). Mi hipótesis es que la agresividad y abundancia de las hormigas determinan la protección a los pulgones e influyen en el crecimiento poblacional de *B. cardui*. Espero que las poblaciones de *B. cardui* atendidas por la especie de hormiga más agresiva y abundante tengan las mayores tasas de crecimiento poblacional; y espero que la especie de hormiga más agresiva y abundante expulse efectivamente a los depredadores de pulgones de las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio y especies

Ver las secciones *Sitio de estudio*, *Pulgones*, *Hormigas ordeñadoras*, y *Enemigos de pulgones* en el CAPÍTULO 1.

Describiendo el patrón: hormigas ordeñadoras y crecimiento de las poblaciones de pulgones

Para determinar el efecto de las hormigas sobre las tasas de crecimiento poblacional de los pulgones, en un parche de 800 m² dominado por *C. thoermeri* en fase reproductiva, marqué 191 cardos. Caractericé el ensamble de hormigas y pulgones sobre las plantas cada 15 días durante tres meses (i.e., seis muestreos en total). Los muestreos los hice en primavera-verano (periodo en el que las abundancias de hormigas, pulgones, y depredadores de pulgones son altas). Al final del muestreo, a los cardos les asigné el estado i) “con la hormiga X” o ii) “sin hormigas”. El estado “con la hormiga X” hace referencia a cardos con pulgones (*B. cardui*) y con una única especie de hormiga.

Consideré que la especie de hormiga X debía permanecer en $\geq 50\%$ de los muestreos y en el resto de los muestreos no debía encontrar a otra especie de hormiga. En este estado encontré 41 plantas con *D. tener* (21% del total de plantas muestreadas), 25 con *C. distinguendus* (13% del total), y 24 con *D. richteri* (12% del total). El estado “sin hormigas” hace referencias a cardos con pulgones (*B. cardui*) y nunca ocupados por hormigas. En este estado encontré 34 plantas (18% del total de plantas muestreadas). En el análisis no incluí a) plantas sin pulgones y sin hormigas (N = 34; 18% del total de plantas), b) plantas con una sola especie de hormiga en $<50\%$ de los muestreos y con reemplazo de especies de hormigas a través de los muestreos (N = 29; 15% del total de

plantas), y c) plantas que tenían más de una especie de hormigas en el mismo muestreo (N = 4; 2% del total de plantas). Al estado a) no lo incluí por no presentar pulgones. A los estados b) y c) no los incluí porque el objetivo de este capítulo fue evaluar efectos individuales de las especies de hormigas. Para estimar el crecimiento de la población de pulgones, determiné la abundancia de pulgones en el tiempo. Para determinar la abundancia de pulgones, conté los grupos de pulgones presentes en una planta y multipliqué el número de grupos de pulgones por el número promedio de individuos por grupo para esa planta. Para estimar el número promedio de individuos por grupo, tomé fotografías de diferentes grupos de pulgones (N = 60) y conté los individuos con el software ImageJ (Schneider *et al.* 2012). Calculé el crecimiento de la población de pulgones con la fórmula de la tasa intrínseca de crecimiento (r),

$$r = \frac{\ln(\text{abundancia de pulgones}_{t_f}) - \ln(\text{abundancia de pulgones}_{t_i})}{(\text{tiempo}_f - \text{tiempo}_i)}, \text{ donde tiempo}_f \text{ y}$$

tiempo_i son el tiempo final e inicial del periodo de muestreo, respectivamente. Valores de $r > 0$, $r = 0$, o $r < 0$ indican que la población de pulgones está aumentando, estable, o disminuyendo, respectivamente (Begon *et al.* 2006). La tasa intrínseca de crecimiento sigue un modelo de crecimiento exponencial, que supone que los recursos son ilimitados para las poblaciones de pulgones. Los cardos con altos niveles de infestación, es decir, plantas con todos sus tallos cubiertos de pulgones, fueron muy poco comunes en los sitios de muestreo (< 3% de las plantas estudiadas), lo que sugiere que el cardo no representa una limitación espacial o de alimento para *B. cardui*. Este indicio nos sugiere que en el sistema no se alcanza la capacidad de carga de la población de pulgones y, entonces, es posible estimar la dinámica poblacional de los pulgones usando la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r).

Para estimar la abundancia de hormigas sobre las plantas, promedié los datos de abundancia provenientes de los seis muestreos. Los cardos de las condiciones descritas

anteriormente estaban i) próximos entre sí (0.2–1m), ii) intercalados en el área, y eran iii) similares en tamaño y otras características (Apéndice, Tabla A2.1); por lo tanto, puede asumirse que la calidad de las plantas era similar en las condiciones descritas. Asumí que las condiciones iniciales de los cardos con pulgones eran similares para todas las especies de hormigas y que la variación de las tasas de crecimiento de las poblaciones de pulgones dependía únicamente de las diferencias en los servicios de defensa de cada especie de hormiga.

Para examinar la relación entre la identidad de las hormigas y la tasa intrínseca de crecimiento de la población de pulgones (r), realicé un ANOVA de una vía donde la variable respuesta fue ' r ' y la variable independiente fueron las condiciones de ocupación del cardo: i) sin hormigas, ii) ocupada por *D. tener*, iii) ocupada por *C. distinguendus*, y iv) ocupada por *D. richteri*. Para examinar la relación entre la abundancia de las especies de hormigas y la tasa intrínseca de crecimiento de la población de pulgones, utilicé pruebas de correlación (test de Pearson; Puth *et al.* 2014). Además, ajusté modelos lineales y no lineales (funciones *glm* y *drm* de los paquetes *stats* y *drc*; Ritz *et al.* 2016) y busqué posibles valores umbral en cada ajuste (función *davies.test* del paquete *segmented*; Muggeo 2008). Entre los modelos no lineales, probé funciones de saturación, que fueron eficaces al describir la relación entre la calidad y la cantidad de la defensa proporcionada por hormigas (Ness *et al.* 2006). Para elegir el mejor modelo, utilicé el AIC (Criterio de Información de Akaike) y BIC (Criterio de Información Bayesiana) (Kuha 2004). Los análisis los hice en R (R Core Team 2016).

Agresividad de las hormigas frente a los depredadores de pulgones

Para determinar la agresividad de las hormigas frente a los depredadores de pulgones, realicé enfrentamientos entre hormigas vs. cuatro especies de mariquitas (*Eriopsis* sp.,

Hippodamia variegata, *Cycloneda germainii*, *Harmonia axyridis*) y hormigas vs. larvas de sírfido. En un área de estepa cercana al sitio de estudio (~100-300m), colecté obreras de hormigas sobre cardos con pulgones (~200 hormigas por especie). Para considerar la variabilidad intra-específica del comportamiento de las hormigas, colecté obreras sobre cardos que estaban distanciados 30 m o más (5-8 cardos por especie de hormiga). Esta distancia fue suficiente para asumir que las hormigas en los cardos provenían de diferentes colonias (para más detalles ver Apéndice, “Método detallado para coleccionar las hormigas en el campo”). En el laboratorio separé a las hormigas en contenedores de plástico (10 x 8 x 5 cm), teniendo en cuenta la especie y la planta de la que fueron colectadas. Como alimento, les suministré agua y agua azucarada mediante un algodón humedecido dispuesto en la boca de un tubo de ensayo relleno con el líquido correspondiente. Además, alimenté a las hormigas con una larva de *Tenebrio molitor* por día. En la misma área que junté las hormigas, recolecté mariquitas adultas y larvas de sírfido, y llevé a dichos insectos al laboratorio donde los dispuse en contenedores de plástico (10 x 8 x 5 cm). Separé a las mariquitas según la especie (*Hippodamia variegata*, *Cycloneda germainii*, *Eriopis* sp., *Harmonia axyridis*; N= 25-30 individuos por especie). A las larvas de sírfido no las separé por especie debido a la dificultad de identificar la especie en el estadio de larva (N = 90 larvas). Alimenté a mariquitas y larvas de sírfido con agua, ofrecida en un algodón embebido (recambiado diariamente), y con pulgones *B. cardui*, ofrecidos en un trozo de tallo de cardo infestado de pulgones.

Para realizar los enfrentamientos entre hormigas y depredadores de pulgones, construí una arena de combate con un contenedor de plástico de 3 cm de diámetro y un tabique móvil que dividía la arena en dos compartimentos. En la base de la arena coloqué un papel filtro marcado con el olor de la especie de hormiga ensayada, el cual había estado en el contenedor de la colonia las 24 h previas al encuentro. Esto último lo

realicé para que las hormigas reconocieran la arena de combate como una zona propia y pudieran rápidamente reconocer la intrusión de las mariquitas o larvas de sírfido. Para estimular el comportamiento de defensa de las hormigas hacia los pulgones, previo al enfrentamiento, incluí un tallo de cardo con *B. cardui* en el contenedor de la hormiga ensayada. Al inicio de cada ensayo, en uno de los compartimentos de la arena de combate coloqué una hormiga y en el otro un depredador, luego de 1 min de habituación a la arena, quité el tabique y grabé (20x ampliación) la confrontación durante los 3 min siguientes. Analicé las grabaciones de cada enfrentamiento y caractericé la agresividad de las hormigas. Para caracterizar la agresividad i) medí el tiempo de encuentro de la hormiga con el depredador y ii) estimé un índice de agresividad. Para estimar el índice de agresividad, identifiqué seis comportamientos de las hormigas: i) ‘huida’, tras el contacto con el depredador la hormiga huye en dirección opuesta; ii) ‘antenación’, las antenas se colocan sobre el depredador de pulgones durante más de 2 s; iii) ‘amenaza’, la hormiga se queda quieta con las mandíbulas abiertas y las antenas ligeramente extendidas hacia el depredador de pulgones; iv) ‘mordida corta’, ataque al depredador mediante mordeduras breves (menos de 2 s); v) ‘mordida larga’, mordedura persistente (más de 2 s) de cualquier parte del cuerpo del depredador de pulgones; vi) ‘flexión del abdomen’, la hormiga dobla su abdomen hacia el depredador de pulgones liberando una sustancia repelente (Apéndice, Video A2.1). El índice de agresividad lo calculé con la fórmula:

$$\text{índice de agresividad} = \frac{\sum_i^6 \text{frecuencia}_i \times \text{intensidad}_i}{\sum_i^6 \text{frecuencia}_i}, \text{ en la que 'frecuencia' es}$$

la ocurrencia de cada comportamiento e ‘intensidad’ es una constante que puntúa la intensidad de la agresión (‘huida’ = - 1, ‘antenación’ = 0, ‘amenaza’ = 1, ‘mordida corta’ = 2, ‘mordida larga’ = 3, y ‘flexión del abdomen’ = 3). El índice de agresividad puede tener valores negativos, cero, o positivos, que implican que las hormigas exhiben

–en promedio– comportamientos evasivos, neutros, o agresivos, respectivamente. Para aumentar el número de réplicas, en los análisis no discriminé la identidad de las mariquitas ni los tamaños de las larvas de sírfido (*D. tener* vs. mariquita: N = 32, *D. tener* vs. larva de sírfido: N = 31, *C. distinguendus* vs. mariquita: N = 27, *C. distinguendus* vs. larva de sírfido: N = 30, *D. richteri* vs. mariquita: N = 28, y *D. richteri* vs. larva de sírfido: N = 30). Para analizar el tiempo de encuentro, utilicé un modelo lineal generalizado (GLM) en el que la variable respuesta fue el tiempo de encuentro y la variable explicativa la especie de hormiga. Para comparar el índice de agresividad, utilicé un modelo lineal de efecto mixto (LME, función *lmer* del paquete *lme4*; Bates *et al.* 2015) en el que la variable respuesta fue el índice de agresividad, las especies de hormigas el factor fijo, y consideré la identidad de la colonia como factor aleatorio. Los análisis los hice en R.

Defensa de la hormiga D. tener a los pulgones en condiciones naturales

Para examinar si, en condiciones naturales, las hormigas disuaden o expulsan a los depredadores de pulgones de los cardos y si esto impacta sobre las poblaciones de pulgones, marqué un nuevo grupo de cardos (N = 30) infestados por *B. cardui* y patrullados por *D. tener* (la especie con mayor índice de agresividad, ver Resultados). En cada planta, elegí dos tallos de igual tamaño y en uno de los tallos dejé el libre acceso a hormigas (tratamiento ‘hormigas presentes’) y en el otro tallo bloqueé el ingreso de las hormigas (tratamiento ‘hormigas ausentes’). Para bloquear el ingreso de las hormigas, envolví la parte basal del tallo con cinta adhesiva (Ductac[®]) y cubrí la cinta con grasa de litio (Lubrigras[®]). Luego, retiré las hormigas remanentes en el tallo con un aspirador de insectos. En los tratamientos ‘hormigas presentes’ u ‘hormigas ausentes’, seleccioné un grupo de pulgones de similar tamaño y con un marcador

permanente dibujé un punto de referencia a 2 cm del grupo (Apéndice, Video A2. 2). En los tallos con ‘hormigas presentes’, conté la abundancia de hormigas ordeñando al grupo de pulgones de referencia. Luego coloqué suavemente en el punto de referencia un depredador de pulgones (mariquita o larva) y determiné, durante 5 minutos, el comportamiento de las hormigas (Apéndice, Video A2.2). Consideré la “expulsión exitosa” del depredador cuando la interacción entre hormigas y depredadores provocó la huida o muerte del depredador de pulgones. Consideré la “expulsión no exitosa” cuando el depredador de pulgones permaneció en la planta durante todo el ensayo a pesar de la interacción con las hormigas. Un procedimiento similar usé para el tratamiento ‘hormigas ausentes’; coloqué depredadores de pulgones en el punto de referencia y consideré “permanencia” cuando el depredador se mantuvo en el tallo y “no permanencia” cuando abandonó el tallo. El tratamiento ‘hormigas ausentes’ me sirvió para determinar que la causa de la caída del enemigo del pulgón se debe a la presencia de las hormigas y no a otra causa (e.g., manipulación con las pinzas, viento, presencia del operador). En los ensayos usé cuatro especies de mariquitas: *Eriopis sp.* (hormigas presentes: N = 23 y hormigas ausentes: N = 16), *H. variegata* (N = 23 y N = 14), *Cycloneda germainii* (N = 20 y N = 15), y *H. axyridis* (N = 20 y N = 11), y larvas de sírfidos (hormigas presentes: N = 30 y hormigas ausentes: N = 19). Dado que la agresividad de las hormigas hacia las larvas de sírfido puede depender del tamaño de la larva (Detrain *et al.* 2017), categoricé las larvas en tres tamaños: i) pequeño: < 4 mm de largo (hormigas presentes: N = 10 y hormigas ausentes: N = 6), ii) mediano: 4-10 mm (N = 9 y N = 7), y iii) grande: > 10 mm (N = 11 y N = 6). Este tipo de categorización por tamaño no fue necesario con las mariquitas porque, si bien a nivel inter-específico las mariquitas adultas difieren notablemente en tamaño (ver en CAPÍTULO 1 Fig. 1.3g-j), a nivel intra-específico esta variación de tamaño fue despreciable. Para analizar si las

hormigas ordeñadoras expulsan a las mariquitas y a las larvas de sírfido, utilicé modelos lineales generalizados (GLM) en los que la variable respuesta fue la ‘probabilidad de expulsión’ (regresión logística, distribución del error: binomial) y la variable predictora la abundancia de hormigas sobre el tallo con pulgones. Como covariables usé a las especies de mariquitas y los tamaños de las larvas.

Para evaluar la eficacia de la defensa proporcionada por la hormiga *D. tener* al pulgón *B. cardui*, realicé un experimento a campo bajo dos tratamientos: i) exclusión de hormigas (las hormigas fueron excluidas como se describió anteriormente) y ii) libre acceso a las hormigas (control). Seleccioné al azar un nuevo grupo de cardos en su fase reproductiva (N = 30). Los cardos estaban infestados con *B. cardui* y patrullados por *D. tener*. En cada cardo, seleccioné dos tallos similares y asigné al azar uno de ellos al tratamiento de exclusión de hormigas y al otro al tratamiento control. En cada tallo, marqué un grupo de pulgones y tomé cuatro fotografías de este grupo cada 5 días y en un total de 20 días. Luego, con el software ImageJ (Schneider *et al.* 2012) conté el número de pulgones por grupo y foto y calculé la densidad de pulgones para cada foto. La densidad de pulgones la obtuve al dividir el número de individuos por la superficie ‘S’ del tallo con pulgones:

$$S = 2\pi \times \text{radio del tallo con pulgones} \times \text{longitud del tallo con pulgones.}$$

Además, en simultáneo a los muestreos de pulgones, conté el número de i) mariquitas, ii) larvas de sírfido, y iii) huevos de sírfido. Por último, el día 15 permití que las hormigas accedieran a la mitad de los tallos excluidos de las hormigas (N = 15; en adelante tratamiento de ‘reversión de exclusión de hormigas’). Para permitir la recolonización de hormigas hice puentes artificiales con hilo desde el tallo sin hormigas a un tallo adyacente con hormigas; este procedimiento fue efectivo en otros estudios en el mismo sistema (Lescano *et al.* 2015). Para analizar los efectos de las exclusiones de

hormigas en la densidad de pulgones y la abundancia de mariquitas, larvas de sírfido, y huevos de sírfido, ajusté modelos mixtos lineales generalizados (GLMM, función *glmmadmb* del paquete *glmmADMB*; Skaug *et al.* 2014) con el tratamiento del tallo como factor fijo (niveles: control y exclusión de hormigas) y la identidad del cardo como factor aleatorio; utilicé una distribución de error binomial negativa para la densidad de pulgones y una distribución de error Poisson para la abundancia de mariquitas, larvas de sírfido y huevos de sírfido. En el día 20, comparé los tratamientos de exclusión de hormigas y de "reversión de exclusión de hormigas" con modelos lineales generalizados (GLM) inflados en cero (función *zeroinfl* del paquete *pscl*; Jackman *et al.* 2017). Todos los análisis los hice en R. Comprobé que los modelos empleados cumplieren con los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

RESULTADOS

Describiendo el patrón: hormigas ordeñadoras y crecimiento de las poblaciones de pulgones

La hormiga *D. tener* ocupó los cardos con mayor frecuencia y abundancia que las especies de hormigas *C. distinguendus* y *D. richteri* (Tabla 2.1). La tasa intrínseca de crecimiento (r) de los pulgones dependió de la especie de hormigas (ANOVA, $F_{3,123} = 11.5$, $p < 0.001$), siendo mayor cuando los pulgones fueron atendidos por *D. tener* ($r = 0.06 \pm 0.004$ día⁻¹, media \pm EE) en comparación a cuando fueron atendidos por *C. distinguendus* (0.03 ± 0.006), *D. richteri* (0.03 ± 0.005), o en comparación a cuando no fueron atendidos por hormigas (0.003 ± 0.007) (Fig. 2.1a). La abundancia de *D. tener* se asoció positivamente con la tasa intrínseca de crecimiento de los pulgones (prueba de correlación de Pearson $r = 0.47$, $t_{37} = 3.2$, $p = 0.002$); y estas variables ajustan a un modelo de regresión lineal (GLM, $t = 3.2$, $p = 0.003$; Fig. 2.1b; Apéndice, Tabla A2.2).

No hubo relación entre la abundancia de las hormigas *C. distinguendus* y *D. richteri* y la tasa intrínseca de crecimiento de los pulgones.

TABLA 2.1 Comparación de características cuantitativas y cualitativas de la defensa de las hormigas hacia los pulgones. Las hormigas ordeñadoras son *Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*. Los cardos muestreados fueron 191. Las medias que comparten letra minúscula en las filas no son significativamente diferentes (test de Tukey de GLMs y LMEs)

	<i>D. tener</i> (media ± EE)	<i>C. distinguendus</i> (media ± EE)	<i>D. richteri</i> (media ± EE)	<i>p</i>
<i>Cantidad de Defensa</i>				
Porcentaje de ocupación ¹	83 ± 3a	60 ± 4b	55 ± 4b	0.03
Abundancia ²	20.3 ± 2.7a	5.4 ± 0.9b	2.3 ± 0.3c	<0.001
<i>Calidad de Defensa</i>				
Índice de agresividad ³	1.8 ± 0.1a	0.2 ± 0.1b	-0.3 ± 0.1c	<0.001

¹ de la misma planta en seis muestreos

² número promedio de hormigas en seis muestreos

³ agresividad contra depredadores de pulgones (4 especies de mariquitas + las larvas de 2 especies de sírfidos; valores agrupados); los valores varían de -1 (comportamiento no agresivo) a +3 (comportamiento agresivo)

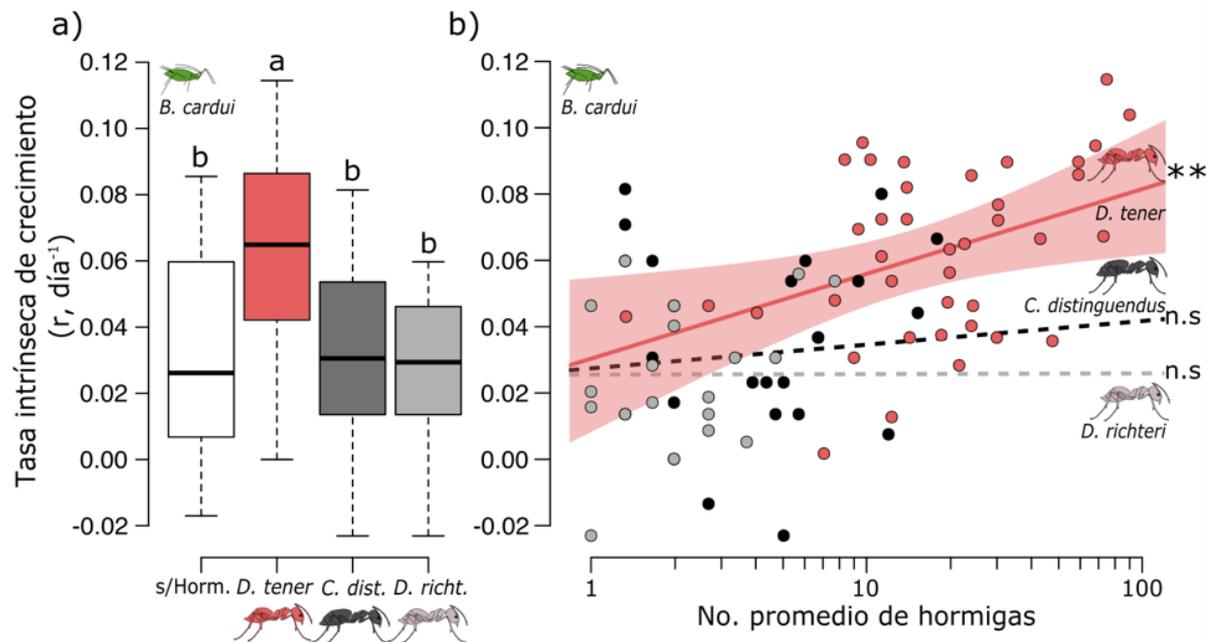


FIG. 2.1 Crecimiento de la población de pulgones según la identidad y abundancia de hormigas ordeñadoras. a) Tasa intrínseca de crecimiento (r , día⁻¹) de la población de pulgones según la especie de hormiga que atiende a los pulgones. La etiqueta 's/Horm.' corresponde a plantas con pulgones pero sin hormigas (caja blanca; N = 34). Las plantas con pulgones y hormigas están etiquetadas con el nombre de las especies de hormiga: *D. tener* (*Dorymyrmex tener*, caja roja; N = 41), *C. dist.* (*Camponotus distinguendus*, caja gris oscuro; N = 25); *D. richt.* (*D. richteri*, caja gris claro; N = 24). Las cajas que

comparten letra minúscula no son significativamente diferentes ($p > 0.05$, pruebas de Tukey proveniente de ANOVA de una vía). b) Relación entre la abundancia de hormigas (número promedio de hormigas en seis muestreos) y la tasa intrínseca de crecimiento (r , día⁻¹) de la población de pulgones. El color de las curvas corresponde a la especie de hormiga según los colores en a). El área sombreada delimita el error estándar de la regresión lineal (solo se muestra para las curvas significativas). Notar que en b) el eje x esta en escala logarítmica. ** $p < 0.01$; n.s.: no significativo

Agresividad de las hormigas frente a los depredadores de pulgones

En la arena de combate, *D. tener* fue la especie que tardó menos tiempo en contactar a los depredadores (GLM, mariquitas: $\chi^2 = 34.01$, $p < 0.001$, larvas de sírfido: $\chi^2 = 28.81$, $p < 0.001$; Fig. 2.2a, d). Además, *D. tener* mostró una alta frecuencia de comportamientos agresivos hacia los depredadores de pulgones (‘amenaza’, ‘mordeduras cortas’, ‘mordeduras largas’, y ‘flexión del abdomen’), mientras que *C. distinguendus* y *D. richteri* mostraron una alta frecuencia de comportamientos pasivos (‘huida’ y ‘antenación’) (Fig. 2.2b, e). El índice de agresividad varió dependiendo de la especie de hormiga (Tabla 2.1), siendo *D. tener* la especie más agresiva hacia las mariquitas y larvas de sírfido (LME, mariquitas: $\chi^2 = 88.8$, $p < 0.001$, larvas de sírfido: $\chi^2 = 348.0$, $p < 0.001$) (Fig. 2.2c, f).

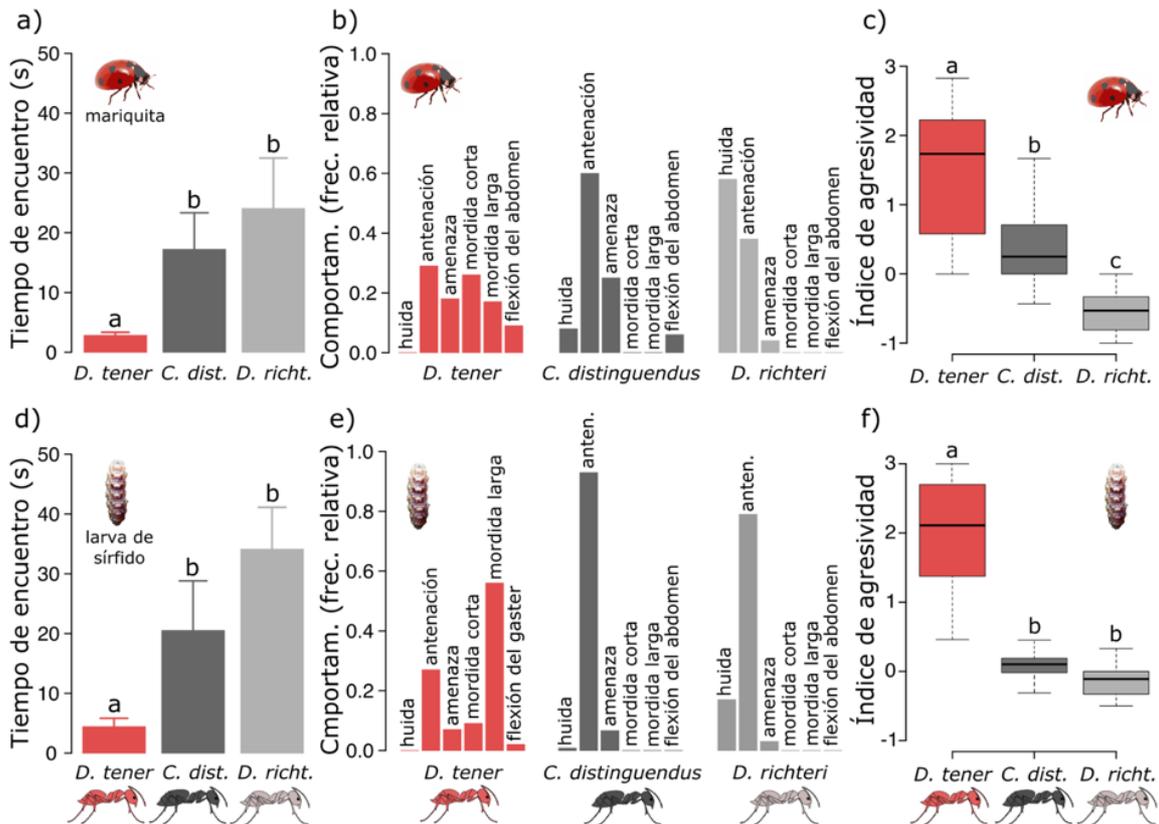


FIG. 2.2 Experimentos de confrontación entre hormigas y depredadores de pulgones. a) Tiempos de encuentro entre hormigas vs. mariquitas (N = 27–32). b) Frecuencia relativa de los comportamientos de las hormigas vs. mariquitas (N = 27–32). c) Índice de agresividad de las hormigas vs. mariquitas (N = 27–32). d) Tiempos de encuentro entre hormigas vs. larvas de sírfido (N = 30–31). e) Frecuencia relativa de los comportamientos de las hormigas vs. larvas de sírfido (N = 30–31). f) Índice de agresividad de las hormigas vs. larvas de sírfido (N = 30–31). En a) y d) las barras y bigotes representan la media \pm EE. En el eje x en b) y e) el comportamiento de las hormigas aumenta su agresividad de izquierda a derecha. En c) y f) el índice de agresividad varía de -1 (comportamiento no agresivo) a +3 (comportamiento agresivo). Para aumentar el número de réplicas por ensayo, no discriminé la identidad de las mariquitas ni los tamaños de las larvas de sírfido. Letras minúsculas diferentes indican diferencias entre las especies de hormigas (pruebas de Tukey Post-Hoc)

Defensa de la hormiga *D. tener* a los pulgones en condiciones naturales

La abundancia de *D. tener* se asoció positivamente con la probabilidad de expulsión de las mariquitas (GLM, *Eriopis* sp.: $z = 2.84$, $p = 0.004$, *H. variegata*: $z = 3.09$, $p = 0.002$, *H. axyridis*: $z = 3.02$, $p = 0.003$) (Fig. 2.3a). Sin embargo, la mariquita *Cycloneda germainii* no mostró asociación entre la probabilidad de ser expulsada y el número de *D. tener* (GLM, $z = 1.72$, $p = 0.08$) (Fig. 2.3a). La abundancia de *D. tener* se asoció

positivamente con la probabilidad de expulsión de las larvas de sírfido (GLM, tamaño pequeño: $z = 2.11$, $p = 0.03$, tamaño medio: $z = 2.26$, $p = 0.02$) (Fig. 2.3b). Sin embargo, las larvas de tamaño grande no mostraron asociación entre la probabilidad de ser expulsadas y el número de *D. tener* (GLM, $z = 1.60$, $p = 0.10$) (Fig. 2.3b). En las pruebas de adición de depredadores en tallos donde *D. tener* fue excluida, las mariquitas y larvas de sírfido permanecieron sobre el tallo durante todo el ensayo.

La densidad de pulgones fue mayor en los tallos con *D. tener* que en los tallos en los que *D. tener* fue excluida (GLMM, $\chi^2 = 108.66$, $p < 0.001$) (Fig. 2.4a). No hubo mariquitas y larvas de sírfido en los tallos con *D. tener*, mientras que sí hubo mariquitas y larvas de sírfido en los tallos en los que *D. tener* fue excluida (GLMM, mariquitas: $\chi^2 = 10.70$, $p = 0.0011$, larvas de sírfido: $\chi^2 = 15.48$, $p < 0.001$) (Fig. 2.4b, c). El número de huevos de sírfido fue menor en los tallos con *D. tener* que en los tallos en los que *D. tener* fue excluida (GLMM, $\chi^2 = 78.56$, $p < 0.001$). Luego de la ‘reversión de la exclusión de hormigas’, la densidad de pulgones aumentó (Análisis inflado en cero, $z = 2.462$, $p = 0.014$) (Fig. 2.4a), el número de larvas de sírfido disminuyó (Análisis inflado en cero, $z = 2.562$, $p = 0.024$) (Fig. 2.4c), y el número de huevos de sírfido disminuyó (Análisis inflado en cero, $z = 2.346$, $p = 0.019$). Luego de la ‘reversión de la exclusión de hormigas’ la abundancia de mariquitas no cambió (Análisis inflado en cero, $z = 0.081$, $p = 0.94$), pero tendió a disminuir (Fig. 2.4b).

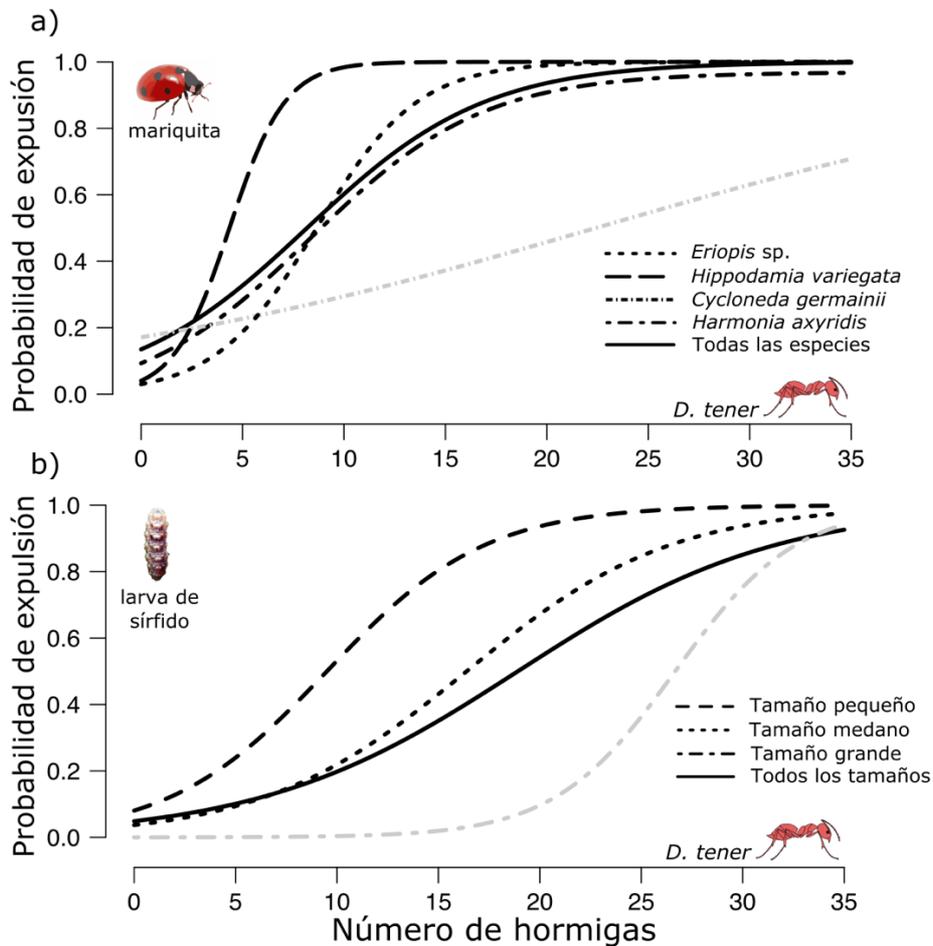


FIG. 2.3 Probabilidad de expulsión de los depredadores de pulgones por parte de la hormiga ordeñadora *Dorymyrmex tener*. a) Relación entre la abundancia de *D. tener* y la probabilidad de expulsar mariquitas. Las mariquitas ensayadas fueron *Eriopis* sp. (N = 23 ensayos), *Hippodamia variegata* (N = 23), *Cycloneda germainii* (N = 20), y *Harmonia axyridis* (N = 20). Las curvas negras son significativas y la curva gris no es significativa (Regresiones logísticas). b) Relación entre la abundancia de *D. tener* y la probabilidad de expulsar larvas de sírfido. Las larvas de sírfido fueron categorizadas según sus tamaños en i) pequeño: < 4 mm de largo (N = 10 ensayos), ii) mediano: 4-10 mm (N = 9), y iii) grande: > 10 mm (N = 11). Las curvas negras son significativas y la curva gris no es significativa (Regresiones logísticas)

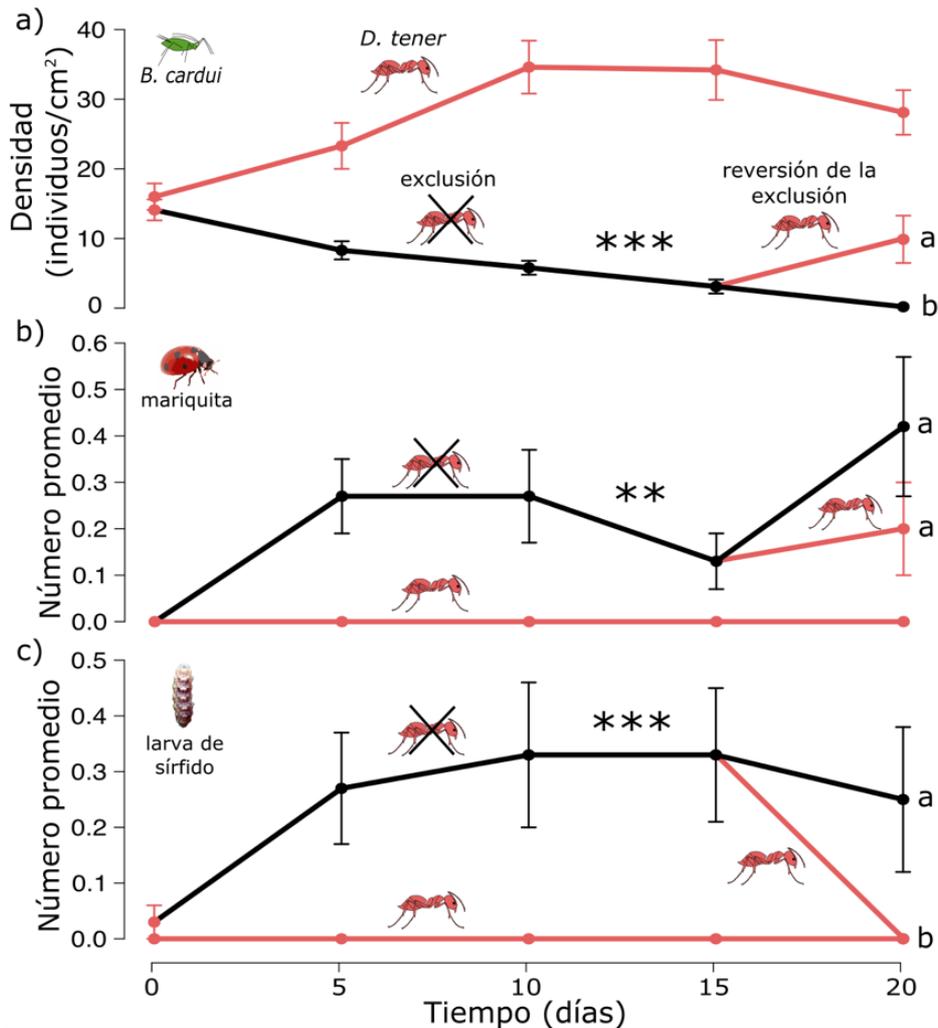


FIG. 2.4 Efecto de excluir a *Dorymyrmex tener* de los tallos de cardo sobre a) la densidad de pulgones, b) el número promedio de mariquitas y c) el número promedio de larvas de sírfido. Las curvas rojas son tallos con pulgones (*Brachycaudus cardui*) atendidos por *D. tener* (N = 30). Las curvas negras son tallos con pulgones en los que se excluyó *D. tener* (N = 30). Estos tratamientos se hicieron en dos tallos de una misma planta. Las plantas se monitorearon cada 5 días durante 20 días. El día 15 se permitió a las hormigas acceder a la mitad de los tallos excluidos ('reversión de la exclusión'). Los asteriscos sobre las curvas indican diferencias entre los tratamientos (tallos con hormigas vs. tallos sin hormigas). Las letras minúsculas al final de las curvas indican diferencias significativas entre la exclusión de hormigas y la 'reversión de la exclusión'. Los puntos y los bigotes representan la media \pm EE. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

DISCUSIÓN

Las interacciones mutualistas frecuentemente involucran a gremios de especies que intercambian servicios beneficiosos (Stanton 2003; Palmer *et al.* 2015). En este escenario es posible encontrar diferencias en la calidad y/o cantidad de los servicios intercambiados. Evidencié que la calidad y cantidad de la defensa que las hormigas

proveen a los pulgones varía dentro del gremio de hormigas ordeñadoras, y que dicha variabilidad fue clave para explicar el crecimiento poblacional de los pulgones. Consideré a la agresividad de las hormigas como proxy de la calidad de su defensa. Observé que los pulgones tuvieron el mayor crecimiento poblacional cuando fueron atendidos por la hormiga más agresiva (*D. tener*), mientras que en las plantas con las hormigas menos agresivas (*C. distinguendus* y *D. richteri*) las tasas de crecimiento poblacional de los pulgones no difirieron a las tasas observadas en plantas sin hormigas. Respecto a la cantidad de defensa, usé como proxy a la abundancia de hormigas sobre las plantas. *Dorymyrmex tener* fue la especie más abundante y frecuente sobre las plantas. La exclusión de *D. tener* afectó negativamente a la abundancia de pulgones y positivamente a la abundancia los depredadores de pulgones. Esto evidencia que la defensa proveída por *D. tener* impacta positivamente sobre la supervivencia y crecimiento poblacional de los pulgones, por ende. Mis resultados muestran que la calidad y cantidad de defensa dependen de la identidad de las hormigas, siendo las especies más agresivas y abundantes las que favorecen el crecimiento poblacional de los pulgones.

La calidad y cantidad de defensa son atributos clave en los mutualismos con varias especies de hormigas defensoras. En lo que respecta a la calidad de la defensa, evidencié que la única especie de hormiga que benefició a las poblaciones de pulgones resultó ser la más agresiva del ensamble y la mejor defensora de pulgones frente a sus depredadores naturales. Coincidiendo con estos resultados, en otros sistemas se ha visto que las especies de hormigas que son mejores protectoras (sea de plantas o homópteros) son las más agresivas hacia otros artrópodos de la comunidad (Grover *et al.* 2007; Fagundes *et al.* 2017; Clark & Singer 2018). En lo que respecta a la cantidad de defensa, en este estudio evidencié que la hormiga más agresiva fue además la más

abundante y frecuente en los cardos. En los mutualismos de defensa a cambio de alimento, la cantidad de defensores puede ser clave para determinar la dinámica poblacional de la especie defendida (Palmer *et al.* 2010). Consistentemente, la abundancia de la hormiga más agresiva se asoció positivamente tanto con la probabilidad de expulsar a los depredadores de pulgones de las plantas, como al crecimiento de la población de pulgones, lo que apoya la idea de que –junto con la calidad del servicio– la cantidad del servicio de protección puede determinar la adecuación de los pulgones. En las comunidades de cardos, los enemigos naturales de pulgones son abundantes, diversos (e.g., mariquitas, larvas de sírfido, y parasitoides) y tienen distintas estrategias de depredación (Brodeur *et al.* 2017). Una alta densidad de hormigas sobre la planta puede aumentar las posibilidades de encuentro con los enemigos naturales de pulgones, resultando en una mayor probabilidad de que estos sean expulsados o eliminados. Esto último es clave para el caso de las mariquitas, que son depredadores voraces que pueden diezmar las poblaciones de pulgones en poco tiempo (Beltrà *et al.* 2018). Aunque el aumento del número de hormigas está asociado positivamente con la protección de los pulgones, un número elevado de hormigas también podría ser perjudicial para los pulgones si la frecuencia elevada de ‘ordeño’ impone un costo fisiológico a los pulgones (Yoo & Holway 2011). Sin embargo, la abundancia de hormigas se asoció positiva y linealmente con el crecimiento de la población de pulgones, lo que sugiere que, en el sistema estudiado, un alto nivel de ‘ordeño’ no sería costoso para los pulgones y que la cantidad de defensa proporcionada por las hormigas no necesariamente compromete la calidad de la defensa. Finalmente, la solución de compromiso entre descubrimiento-explotación (*discovery-exploitation tradeoff*) y el tamaño del nido (van Oudenhove *et al.* 2018; Planqué *et al.* 2010), podrían explicar la notable diferencia en las abundancias de las especies de hormigas

sobre las plantas. Así, las especies dominantes y de nido grande (e.g., *D. tener*) apostarían a la explotación colectiva del recurso con un reclutamiento masivo a las plantas con pulgones, mientras que las especies subordinadas y de nidos pequeños (e.g., *C. distinguendus* y *D. richteri*) apostarían al descubrimiento oportunista del recurso, lo que implica una mayor inversión en hormigas exploradoras que en el reclutamiento masivo. Ambos factores descritos podrían además explicar el mantenimiento de la diversidad de hormigas ordeñadoras dentro de la comunidad estudiada (e.g., Tiong & Morse 2021).

Si bien la abundancia de la hormiga *D. tener* se asoció positivamente al crecimiento poblacional de los pulgones, el nivel de correlación no fue alto (correlación de Pearson = 0.47; ver dispersión de puntos para *D. tener* en Fig. 2.1b). Esto sugiere que otros factores –aparte de la abundancia de hormigas– explican el crecimiento poblacional de los pulgones. Factores climáticos que no medí en esta tesis, como el viento, precipitación, humedad, y temperatura, pueden influir en la adecuación de los pulgones e impactar sobre las tasas de crecimiento poblacional (Xia *et al.* 1999; Tomar 2010; Barton & Ives 2014; Devegili *et al.* 2019). Además, aquí no considere a los parasitoides de pulgones, los cuales pueden afectar negativamente la supervivencia y crecimiento poblacional de los pulgones (Kaser & Heimpel 2018). Finalmente, en mi medida de abundancia de hormigas sobre una planta, al calcular el promedio de la cantidad de hormigas en seis muestreos, no contemplé la variabilidad temporal de la cantidad de hormigas en función de la cantidad de pulgones, y esto también podría explicar la variabilidad que observé en la tasas de crecimiento poblacional de *B. cardui*.

La variabilidad en las estrategias de forrajeo de los depredadores de pulgones podría explicar la respuesta diferencial de las hormigas ordeñadoras hacia las mariquitas y larvas de sírfido. Los depredadores de pulgones tienen estrategias de forrajeo muy

distintas: las mariquitas son cazadoras activas que se desplazan grandes distancias sobre las plantas y de manera veloz; las larvas de sírfido tienen movimientos lentos y usualmente no se desplazan grandes distancias (Rotheray 1986; Rodríguez-Gasol *et al.* 2020). Estar inmóvil es una forma efectiva que tienen los depredadores de pulgones para escapar o, al menos, retrasar los ataques de las hormigas ordeñadoras (Novgorodova & Gavrilyuk 2012). Sin embargo, en los experimentos de confrontación de a pares, no detecté diferencias significativas entre los tiempos de encuentro y agresividad de la hormiga *D. tener* hacia las mariquitas o larvas de sírfido. La arena de combate que empleé en las confrontaciones era pequeña y esto probablemente favoreció la detección de los enemigos por parte de las hormigas, independientemente de si el enemigo era una mariquita o larva de sírfido. Sin embargo, en los experimentos que realicé directamente sobre cardos encontré diferencias entre los comportamientos de las hormigas ordeñadoras hacia las mariquitas y larvas de sírfido. Las hormigas expulsaron de manera más eficiente a las mariquitas que a las larvas de sírfido de los cardos. Esto podría explicarse porque las mariquitas se movieron activamente al ser depositadas sobre los cardos, mientras que las larvas de sírfido se mantuvieron generalmente en la misma posición en la que fueron colocadas o se desplazaron pocos centímetros. Posiblemente, las mariquitas son un blanco más fácil de detectar para las hormigas ordeñadoras que las larvas de sírfido. Sin embargo, es importante destacar que una especie de mariquita (*Cycloneda germanii*) no fue expulsada en varias oportunidades por las hormigas ordeñadoras. *Cycloneda germanii* es la mariquita de menor tamaño, lo cual podría beneficiarla ya que podría ser más difícil que la detecten las hormigas. Su menor tamaño también podría evitarle mordidas de las hormigas ya que esta mariquita usualmente respondía agazapándose y escondiendo sus pequeños miembros debajo de los élitros. Respecto a las larvas de sírfido, en los experimentos de campo encontré que

las hormigas ordeñadoras agresivas expulsan eficientemente a las larvas de tamaño pequeño e intermedio, mientras que no tiene la misma eficiencia con las más grandes. Las larvas de sírfido cuentan con un mecanismo de defensa muy eficaz frente a las hormigas: cuando las hormigas las muerden, las larvas excretan una gota pegajosa que afecta a la motricidad y comportamiento de las hormigas (Detrain *et al.* 2017). Las larvas de mayor tamaño excretan gotas de mayor volumen y en mayor frecuencia (Detrain *et al.* 2017) y esto podría explicar porqué las hormigas no lograron expulsar a las larvas grandes de los cardos.

Las hormigas suelen establecer mutualismos heterogéneamente difusos (*unevenly diffuse mutualisms*), donde una o unas pocas especies son claves (*keystone species*) y el resto de las especies carecen de relevancia ecológica para la interacción (e.g, Gove *et al.* 2007; Aranda-Rickert & Fracchia 2011). Sólo la especie de hormiga más abundante y agresiva (*D. tener*) aumentó la adecuación de los pulgones, i.e., actuó como un "verdadero" mutualista y fue la especie clave para la interacción, mientras que las especies de hormiga menos agresivas y menos abundantes (*C. distinguendus* y *D. richteri*) no afectaron la adecuación de los pulgones, i.e., actuaron como comensalistas (comprobé que las tres especies de hormigas consumen melaza de pulgones). Que solo una especie de hormiga ordeñadora sea clave para los pulgones podría explicarse por características intrínsecas a las interacciones hormiga-pulgón. En estas interacciones, varias especies de hormigas suelen encontrarse involucradas con una o unas pocas especies de pulgón, y las especies de hormiga dominantes y agresivas suelen monopolizar las plantas infestadas de pulgones mientras que las especies subordinadas y menos agresivas suelen actuar de manera oportunista (Blüthgen & Fiedler 2004; Grover *et al.* 2007; Wilder *et al.* 2013). Las hormigas ordeñadoras suelen monopolizar a las plantas con pulgones por la importancia que representa la melaza de pulgón para el

crecimiento de la colonia (Wills *et al.* 2015; Wittman *et al.* 2018). La pérdida del control de los pulgones y plantas por parte de hormigas rivales puede resultar costosa para la colonia, incluso más que el costo de perder pulgones por un aumento de la actividad de los enemigos naturales de pulgones (Phillips & Willis 2005). Estudios anteriores en el sistema de cardos-pulgones-hormigas evidenciaron que las hormigas monopolizan los cardos infestados de pulgones y que las hormigas patrullan los cardos incluso durante la noche posiblemente para no perder el control de la melaza por parte de otras especies (Lescano *et al.* 2014, 2015).

Aunque solo una especie del ensamble de hormigas ordeñadoras fue realmente mutualista de pulgones, esta interacción podría cambiar hacia el comensalismo, el parasitismo, o la depredación en determinados contextos. Por ejemplo, si la abundancia de depredadores de pulgones disminuye considerablemente por una causa distinta a la presencia de hormigas, la especie de hormiga mejor protectora de los pulgones seguiría beneficiándose de la melaza de los pulgones sin brindar ningún tipo de defensa. Este escenario podría dar lugar a un comensalismo si es que las hormigas no representan un costo a los pulgones, o pasar al parasitismo si el consumo de melaza impone un costo a los pulgones (Cushman & Whitham 1989; Stadler & Dixon 1998; Vantaux *et al.* 2015). El mutualismo hormiga-pulgón puede incluso virar a la depredación si la abundancia de pulgones aumenta drásticamente y, por lo tanto, la provisión de melaza excede las necesidades de la colonia; en este escenario, las hormigas pueden comenzar a depredar pulgones para mantener el equilibrio azúcar:proteína de su dieta (Sakata 1994). Por último, un aumento en la abundancia de hormigas puede incrementar su agresividad y detección hacia otros artrópodos (Tanner 2006, 2008). Así, hormigas inicialmente consideradas comensalistas (e.g., *C. distinguendus* y *D. richteri*), posiblemente se

tornen mutualistas si su abundancia aumenta drásticamente y esto provoca una mayor defensa de los pulgones frente a sus depredadores.

En resumen, la calidad y cantidad de la defensa que proveen las hormigas ordeñadoras a los pulgones afecta el crecimiento poblacional de los pulgones sobre los cardos. Conocemos asombrosamente menos sobre las interacciones hormiga-pulgón del hemisferio sur que el norte (Siddiqui *et al.* 2019). Este conocimiento es fundamental, ya que las hormigas y pulgones establecen interacciones claves que pueden estructurar las comunidades de plantas (Styrsky & Eubanks 2007; Zhang *et al.* 2012). Por un lado, las hormigas ordeñadoras pueden afectar negativamente la adecuación de las plantas al aumentar la infestación y daño de los pulgones (Canedo-Junior *et al.* 2017; Ortega-Ramos *et al.* 2020). Por otro lado, pueden afectar positivamente la adecuación de las plantas al defenderlas de los herbívoros no-pulgón (Styrsky & Eubanks 2007). Estos efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras pueden ser claves para explicar el proceso de invasión del cardo exótico *C. thoermeri*; tema que abordaré en más detalle en el siguiente capítulo.

ARTÍCULO DERIVADO DEL CAPÍTULO 2

Devegili AM, Lescano MN, Gianoli E, Farji-Brener AG (2020) Defence variation within a guild of aphid-tending ants explains aphid population growth. *Ecol Entomol* 45:1180–1189 doi:10.1111/een.12904

REFERENCIAS

- Aranda-Rickert A, Fracchia S (2011) *Pogonomymex cunicularius* as the keystone disperser of elaiosome-bearing *Jatropha excisa* seeds in semi-arid Argentina. *Entomol Exp Appl* 139:91–102 doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01111.x
- Barton BT, Ives AR (2014) Species interactions and a chain of indirect effects driven by reduced precipitation. *Ecology* 95:486–494 doi:10.1890/13-0044.1
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S, Christensen RHB, Singmann H, ..., Fox J (2015) Package ‘lme4’. R package version 1.1-23. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/index.html>. Accedido el 01/04/2020
- Begon M, Townsend CR, Harper JL (2006) *Ecology: from individuals to ecosystems*, 4th Ed. Blackwell Publishing, Malden
- Beltrà A, Wäckers FL, Nedvěd O, Pekas A (2018) Predation rate and performance of three ladybirds against the green peach aphid *Myzus persicae* in sweet pepper. *Entomol Exp Appl* 166:491–99 doi:10.1111/eea.12691
- Blüthgen N, Fiedler K (2004) Competition for composition: lessons from nectar-feeding ant communities. *Ecology* 85:1479–85 doi:10.1890/03-0430
- Brodeur J, Hajek AE, Heimpel GE, Sloggett JJ, Mackauer M, Pell JK, Völkl W (2017) Predators, Parasitoids and Pathogens. En: Van Emden HF, Harrington R (eds) *Aphids as Crop Pests*. CABInternational, United Kingdom, pp 225–261
- Brodie JF, Helmy OE, Brockelman WY, Maron JL (2009) Functional differences within a guild of tropical mammalian frugivores. *Ecology* 90:688–98 doi:10.1890/08-0111.1
- Bronstein JL (1994) Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Tre Ecol Evol* 9:214–217 doi:10.1016/0169-5347(94)90246-1
- Bronstein JL (2015) *Mutualism*. Oxford University Press, Estados Unidos de América

- Canedo-Júnior EO, Santiago GS, Zurlo LF, Ribas CR, Carvalho RP, Alves GP, ...
 Souza B (2017) Isolated and community contexts produce distinct responses by host plants to the presence of ant–aphid interaction: plant productivity and seed viability. *PLoS ONE* 12:e0170915 doi:10.1371/journal.pone.0170915
- Chamberlain SA, Holland JN (2009) Quantitative synthesis of context dependency in ant–plant protection mutualisms. *Ecology* 90:2384–92 doi:10.1890/08-1490.1
- Clark RE, Singer MS (2018) Differences in aggressive behaviors between two ant species determine the ecological consequences of a facultative food-for-protection mutualism. *J Insect Behav* 31:510–22 doi:10.1007/s10905-018-9695-8
- Clark RE, Illan JG, Comerford MS, Singer MS (2019) Keystone mutualism influences forest tree growth at a landscape scale. *Ecol Lett* 22:1599–607 doi:10.1111/ele.13352
- Cushman J, Whitham TG (1989) Conditional mutualism in a membracid-ant association: temporal, age-specific, and density-dependent effects. *Ecology* 70:1040–47 doi:10.2307/1941372
- Del-Claro K, Oliveira PS (2000) Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. *Oecologia* 124:156–65 doi:10.1007/s004420050002
- Detrain C, Fichaux M, Verheggen F (2017) Tuned protection of aphids by ants against a predatory hoverfly. *Ecol Entomol* 42:235–44 doi:10.1111/een.12378
- Devegili AM, Alma AM, Lescano MN, Farji-Brener AG (2019) Wind matters: Asymmetric distribution of aphids on host plants can be explained by stems functioning as windbreaks. *Austral Ecol* 44:1187–95 doi:10.1111/aec.12796
- Fagundes R, Dáttilo W, Ribeiro SP, Rico-Gray V, Jordano P, Del-Claro K (2017) Differences among ant species in plant protection are related to production of

- extrafloral nectar and degree of leaf herbivory. *Biol J Linn Soc* 122:71–83
doi:10.1093/biolinnean/blx059
- Ford KR, Ness JH, Bronstein JL, Morris WF (2015) The demographic consequences of mutualism: ants increase host-plant fruit production but not population growth. *Oecologia* 179:435–46 doi:10.1007/s00442-015-3341-3
- Gove AD, Majer JD, Dunn RR (2007) A keystone ant species promotes seed dispersal in a “diffuse” mutualism. *Oecologia* 153:687–697 doi:10.1007/s00442-007-0756-5
- Grover CD, Kay AD, Monson JA, Marsh TC, Holway DA (2007) Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in argentine ants. *P Roy Soc B-Biol Sci* 274:2951–57 doi:10.1098/rspb.2007.1065
- Herrera CM (1987) Components of pollinator "quality": comparative analysis of a diverse insect assemblage. *Oikos* 50:79–90 doi:10.2307/3565403
- Herrera CM (1989) Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the "quantity" component in a plant-pollinator system. *Oecologia* 80:241–48 doi:10.1007/bf00380158
- Jackman S, Tahk A, Zeileis A, Maimone C, Fearon J, Meers Z (2017) Package ‘pscl’. R package version 1.5.2. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/pscl/index.html>. Accedido el 15/01/2019
- Kaplan I, Eubanks MD (2005) Aphids alter the community-wide impact of fire ants. *Ecology* 86:1640–49 doi:10.1890/04-0016
- Kaser JM, Heimpel GE (2018) Impact of the parasitoid *Aphelinus certus* on soybean aphid populations. *Biol Control* 127:17–24 doi:10.1016/j.biocontrol.2018.08.014
- Kuha J (2004) AIC and BIC: Comparisons of assumptions and performance. *Sociol Methods Res* 33:188–229 doi:10.1177/0049124103262065
- Lescano MN, Farji-Brener AG (2011) Exotic thistles increase native ant abundance

- through the maintenance of enhanced aphid populations. *Ecol Res* 26:827–34
doi:10.1007/s11284-011-0842-3
- Lescano MN, Farji-Brener AG, Gianoli E (2014) Nocturnal resource defence in aphid-tending ants of northern Patagonia. *Ecol Entomol* 39:203–9 doi:10.1111/een.12081
- Lescano MN, Farji-Brener AG, Gianoli E (2015) Outcomes of competitive interactions after a natural increment of resources: the assemblage of aphid-tending ants in northern Patagonia. *Insectes Soc* 62:199–205 doi:10.1007/s00040-015-0393-7
- Madjidian JA, Morales CL, Smith HG (2008) Displacement of a native by an alien bumblebee: lower pollinator efficiency overcome by overwhelmingly higher visitation frequency. *Oecologia* 156:835–45 doi:10.1007/s00442-008-1039-5
- Miller TEX (2007) Does having multiple partners weaken the benefits of facultative mutualism? A test with cacti and cactus-tending ants. *Oikos* 116:500–12
doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15317.x
- Mooney KA, Mandal K (2010) Competition hierarchies among ants and predation by birds jointly determine the strength of multi-species ant–aphid mutualisms. *Oikos* 119:874–82 doi:10.1111/j.1600-0706.2009.18163.x
- Morris WF (2003) Which Mutualists Are Most Essential? Buffering of Plant Reproduction against the Extinction of Pollinators. In: Kareiva P, Levin SA (eds) *The Importance of Species: Perspectives on Expendability and Triage*, 1st Edn, pp 260–80. Princeton University Press, Princeton
- Muggeo VMR (2008) Package ‘segmented’. R package version 1.1-0. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/segmented/index.html>. Accedido el 01/04/2020
- Ness JH, Morris WF, Bronstein JL (2006) Integrating quality and quantity of mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*

- 87:912–21 doi:10.1890/0012-9658(2006)87[912:iqaqom]2.0.co;2
- New TR (2017) *Mutualisms and insect conservation*. Springer, Estados Unidos de América
- Novgorodova TA, Gavriilyuk AV (2012) The degree of protection different ants (Hymenoptera: Formicidae) provide aphids (Hemiptera: Aphididae) against aphidophages. *Eur J Entomol* 109:187–196 doi:10.14411/eje.2012.025
- Palmer TM, Doak DF, Stanton ML, Bronstein JL, Kiers ET, Young TP, Pringle RM (2010) Synergy of multiple partners, including freeloaders, increases host fitness in a multispecies mutualism. *Proc Natl Acad Sci* 107:17234–39 doi:10.1073/pnas.1006872107
- Palmer TM, Pringle EG, Stier A, Holt RD (2015) Mutualism in a community context. In: Bronstein JL (ed) *Mutualism*, 1st Edn, pp 159–180. Oxford University Press, New York
- Phillips ID, Willis CK (2005) Defensive behavior of ants in a mutualistic relationship with aphids. *Behav Ecol Sociobiol* 59:321–25 doi:10.1007/s00265-005-0046-3
- Planqué R, Van Den Berg JB, Franks NR (2010) Recruitment strategies and colony size in ants. *PLoS One* 5:e11664 doi:10.1371/journal.pone.0011664
- Pringle EG, Gordon DM (2013) Protection mutualisms and the community: geographic variation in an ant-plant symbiosis and the consequences for herbivores. *Sociobiology* 60:242–51 doi:10.13102/sociobiology.v60i3.242-251
- Puth MT, Neuhäuser M, Ruxton GD (2014) Effective use of Pearson's product–moment correlation coefficient. *Anim Behav* 93:183–9 doi:10.1016/j.anbehav.2014.05.003
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing.
- Ortega-Ramos PA, Mezquida ET, Acebes P (2020) Ants indirectly reduce the reproductive performance of a leafless shrub by benefiting aphids through predator

- deterrence. *Plant Ecol* 221:91–101 doi:10.1007/s11258-019-00995-0
- Prakash S, Tomar S (2010) Impact of weather parameters on aphid population in cotton. *Indian J Agric Res* 44:125–130
- Rico-Gray V, Thien LB (1989) Effect of different ant species on reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae). *Oecologia* 81:487–9
doi:10.1007/bf00378956
- Ritz C, Streibig JC, Ritz MC (2016) Package ‘drc’. R package version 3.0-1. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/drc/index.html>. Accedido el 05/05/2020
- Rodríguez-Gasol N, Alins G, Veronesi E, Wratten S (2020) The ecology of predatory hoverflies as ecosystem-service providers in agricultural systems. *Biol Control* 151:104405 doi:10.1016/j.biocontrol.2020.104405
- Rotheray GE (1986) Colour, shape and defence in aphidophagous syrphid larvae (Diptera). *Zool J Linn Soc* 88:201–216 doi:10.1111/j.1096-3642.1986.tb01188.x
- Sakata H (1994) How an ant decides to prey on or to attend aphids. *Popul Ecol* 36:45–51 doi:10.1007/bf02515084
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 9:671–75 doi:10.1038/nmeth.2089
- Schupp EW (1993) Quantity, Quality and the Effectiveness of Seed Dispersal by Animals. *Vegetatio* 107:15–29 doi:10.1007/978-94-011-1749-4_2
- Senft M, Weisser WW, Zytynska SE (2017) Habitat variation, mutualism and predation shape the spatio-temporal dynamics of tansy aphids. *Ecol Entomol* 42:389–401
doi:10.1111/een.12396
- Shik JZ, Kay AD, Silverman J (2014) Aphid honeydew provides a nutritionally balanced resource for incipient argentine ant mutualists. *Anim Behav* 95:33–39
doi:10.1016/j.anbehav.2014.06.008

- Siddiqui JA, Li J, Zou X, Bodlah I, Huang X (2019) Meta-analysis of the global diversity and spatial patterns of aphid-ant mutualistic relationships. *Appl Ecol Env Res* 17:5471–5524 doi:10.15666/aeer/1703_54715524
- Skaug H, Fournier D, Nielsen A, Magnusson A, Bolker B (2014) Package ‘glmmADMB’. R package version 0.8.3.4. Disponible en <http://glmmadmb.r-forge.r-project.org>. Accedido en 30/01/2019
- Stadler B, Dixon AFG (1998) Costs of ant attendance for aphids. *Journal of Animal Ecology* 67:454–9 doi:10.1046/j.1365-2656.1998.00209.x
- Stadler B, Dixon AFG (2008) *Mutualism: Ants and their Insect Partners*. Cambridge university press, Cambridge
- Stanton ML (2003) Interacting guilds: moving beyond the pairwise perspective on mutualisms. *Am Nat* 162:S10–23 doi:10.1086/378646
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *P Roy Soc B-Biol Sci* 274:151–64 doi:10.1098/rspb.2006.3701
- Tanner CJ (2006) Numerical assessment affects aggression and competitive ability: a team-fighting strategy for the ant *Formica xerophila*. *P Roy Soc B-Biol Sci* 273:2737–42 doi:10.1098/rspb.2006.3626
- Tanner CJ (2008) Aggressive group behaviour in the ant *Formica xerophila* is coordinated by direct nestmate contact. *Anim Behav* 76:1335–41 doi:10.1016/j.anbehav.2008.04.022
- Tiong GJ, Morse DH (2021) Discovery-exploitation tradeoffs in a multispecies ant-treehopper mutualism: foraging strategy differences and temporal changes across ant attendance behaviors. *J Insect Behav* 34:173-185 doi:10.1007/s10905-021-09782-0

- van Oudenhove L, Cerda X, Bernstein C (2018) Dominance-discovery and discovery-exploitation trade-offs promote diversity in ant communities. *PloS one* 13:e0209596 doi:10.1371/journal.pone.0209596
- Vantaux A, Schillewaert S, Parmentier T, Van Den Ende WIM, Billen J, Wenseleers TOM (2015) The cost of ant attendance and melezitose secretion in the black bean aphid *Aphis fabae*. *Ecol Entomol* 40:511–17 doi:10.1111/een.12217
- Wilder SM, Barnum TR, Holway DA, Suarez AV, Eubanks MD (2013) Introduced fire ants can exclude native ants from critical mutualist-provided resources. *Oecologia* 172:197–205 doi:10.1007/s00442-012-2477-7
- Wills BD, Chong CD, Wilder SM, Eubanks MD, Holway DA, Suarez AV (2015) Effect of carbohydrate supplementation on investment into offspring number, size, and condition in a social insect. *PloS One* 10:e0132440 doi:10.1371/journal.pone.0132440
- Wittman SE, O’Dowd DJ, Green PT (2018) Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. *Ecosphere* 9:e02403 doi:10.1002/ecs2.2403
- Xia JY, Van der Werf W, Rabbinge R (1999) Influence of temperature on bionomics of cotton aphid, *Aphis gossypii*, on cotton. *Entomol Exp Appl* 90:25–35 doi:10.1046/j.1570-7458.1999.00420.x
- Yoo HJS, Holway DA (2011) Context-dependence in an ant–aphid mutualism: direct effects of tending intensity on aphid performance. *Ecol Entomol* 36:450–58 doi:10.1111/j.1365-2311.2011.01288.x
- Zhang S, Zhang Y, Ma K (2012) The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: a meta-analysis. *Basic Appl Ecol* 13:116–24 doi:10.1016/j.baae.2012.02.002

Zvereva EL, Lanta V, Kozlov MK (2010) Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies.

Oecologia 163:949–60 doi:10.1007/s00442-010-1633-1

APÉNDICE

Método detallado para coleccionar las hormigas en el campo

Para determinar la agresividad de las hormigas contra los depredadores de pulgones, en un parche de cardos junto al sitio de estudio, recolecté individuos de las tres especies de hormigas (*D. tener*, *C. distinguendus*, y *D. richteri*). Las hormigas las recolecté directamente de los cardos usando un aspirador de insectos (~200 hormigas por especie). Para tener en cuenta la variación de la agresividad de las hormigas entre colonias, incluí individuos de diferentes colonias. Para ello, recolecté individuos de plantas que estaban separadas >30 m (*Dorymyrmex tener*: N = 8 plantas, *Camponotus distinguendus*: N = 5 plantas, y *D. richteri*: N = 6 plantas). Para determinar si 30 m es una distancia suficiente para asegurar que los individuos proceden de distintas colonias, realicé un experimento de campo con la hormiga *D. tener*. Junté obreras de *D. tener* de un cardo, caminé 30 m, y seleccioné el cardo más cercano con obreras de *D. tener*. Solté las hormigas recolectadas en el cardo objetivo. Esto lo repetí 5 veces. En todos los casos las hormigas residentes lucharon contra las introducidas, evidenciando que las obreras no se reconocían y procedían de diferentes colonias. Este experimento lo hice solo con *D. tener* porque tiene la mayor densidad de nidos por hectárea y es la especie más activa en la búsqueda de alimento. Como las otras especies (*C. distinguendus* y *D. richteri*) tienen considerablemente menos nidos por hectárea y son menos activas en cuanto al forrajeo, nos parece justo asumir que 30 m es una distancia aceptable para que los cardos estén ocupados por hormigas de distintos nidos en todas las especies ensayadas.

TABLA A2.1 Comparación de rasgos vegetativos y reproductivos de *Carduus thoermeri* en dos condiciones naturales: i) “Con hormigas” (*D. tener*, *C. distinguendus*, o *D. richteri*), y ii) “Sin hormigas”. También comparo la abundancia inicial de pulgones (*B. cardui*) para cada condición natural. Los valores que muestro son la media \pm EE. En una fila, aquellos valores que comparten letra minúscula no son estadísticamente diferentes (Prueba de Tukey siguiendo GLM)

	Condición				p
	c/hormigas			s/hormigas	
	<i>D. tener</i>	<i>C. distinguendus</i>	<i>D. richteri</i>		
Rasgo del cardo					
Altura (cm)	124.7 \pm 2.7a	130.3 \pm 4.9a	130.3 \pm 4.9a	130.4 \pm 4.0a	0.59
No. de tallos	3.9 \pm 0.2a	3.8 \pm 0.4a	3.9 \pm 0.3a	3.7 \pm 0.3a	0.98
No. de inflorescencias	4.6 \pm 0.3a	5.0 \pm 0.5a	4.5 \pm 0.4a	4.2 \pm 0.4a	0.68
Pulgón					
Abundancia inicial*	31 \pm 8a	30 \pm 6a	26 \pm 9a	18 \pm 8a	0.55

*No. de pulgones en el primer muestreo (noviembre)

TABLA A2.2 Rankings y bondad de ajuste de modelos que relacionan la abundancia de la hormiga *D. tener* con la tasa de crecimiento de la población de pulgones

ranking	modelo	fórmula	k	AIC	Δ AIC	BIC
1	Lineal	$y = \alpha + \beta x$	2	-177.4	0	-172.3
2	No lineal (Michaelis-Menten)	$y = \alpha + \frac{\beta x}{\gamma + x}$	3	-171.8	5.6	-166.8
3	Nulo	$y = \alpha$	1	-169.6	7.8	-166.2
4	No lineal (Monomolecular)	$y = \alpha + \beta * (1 - e^{-\gamma * x})$	3	-169.3	8.1	-164.3
5	No lineal (Holling type III)	$y = \alpha + \frac{\beta * x^2}{\gamma^2 + x^2}$	3	-168.6	8.8	-163.6

k, número de parámetros; AIC, Criterio de Información de Akaike; Δ AIC, diferencia absoluta respecto al modelo con mejor AIC; BIC, Criterio de Información Bayesiano

VIDEO A2.1 Set de comportamientos de las hormigas ordeñadoras que use para calcular su agresividad frente a los depredadores de pulgones. Los comportamientos fueron: ‘huida’ (-1), ‘antenación’ (0), ‘amenaza’ (1), ‘mordida corta’ (2), ‘mordida larga’ (3), ‘flexión del abdomen’ (3). En los paréntesis se indica la magnitud de la agresión, donde -1 y +3 son el mínimo y máximo nivel de agresividad, respectivamente. Estimé la agresividad de las hormigas con la siguiente fórmula:

$$Agresividad = (\sum_i^6 frecuencia_i \times intensidad_i) / (\sum_i^6 frecuencia_i), \text{ donde}$$

‘frecuencia’ es la ocurrencia de los comportamientos e ‘intensidad’ es la magnitud de la agresión. [Link al Video A2.1](#)

VIDEO A2.2 Experimento de exclusión de hormigas sobre cardos en el que examiné si las hormigas ordeñadoras agresivas expulsan de las plantas a las mariquitas y larvas de sírfido. [Link al Video A2.2](#)

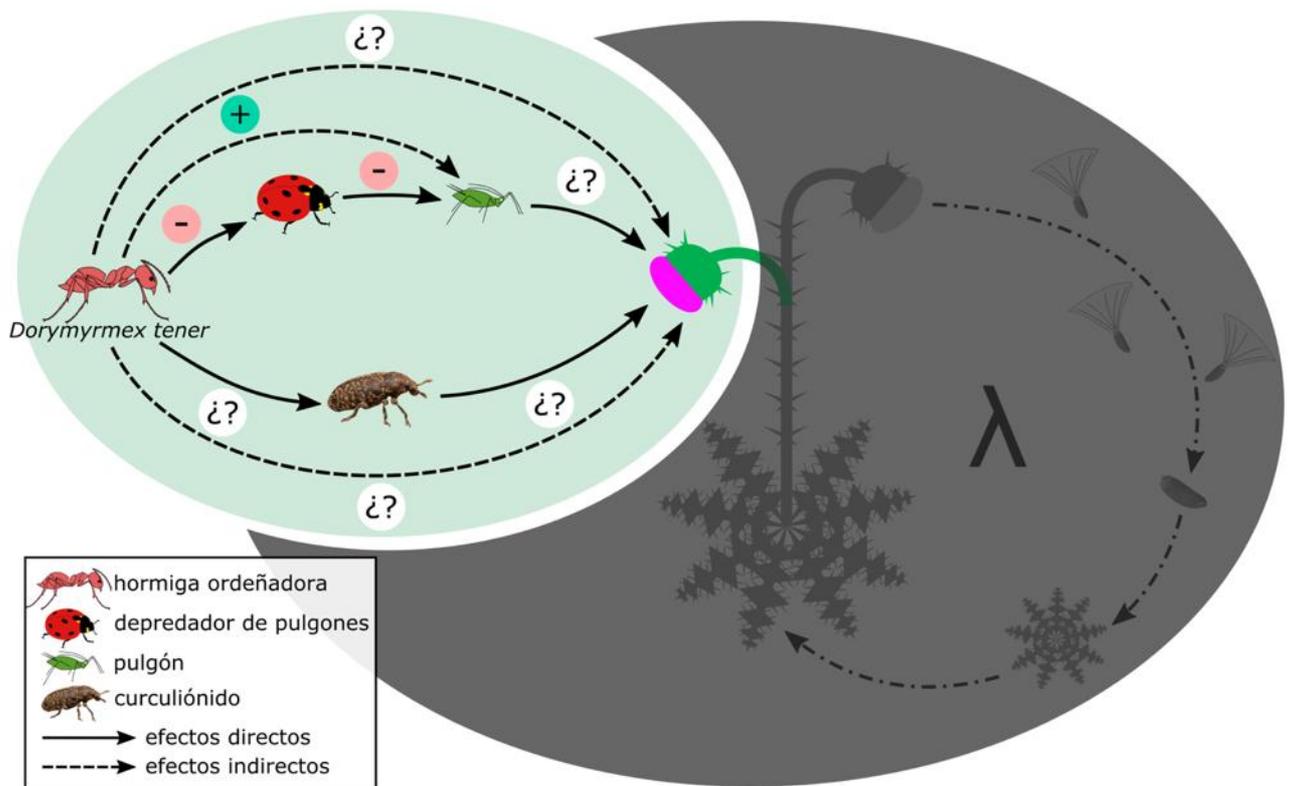
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO 2 – FOCO EN LAS HORMIGAS Y PULGONES

CAPÍTULO 3 – FOCO EN LA ADECUACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA: LA HORMIGA MÁS AGRESIVA DISMINUYE LA REPRODUCCIÓN DEL CARDO

CAPÍTULO 4 – FOCO EN LA POBLACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN GENERAL



RESUMEN

Las interacciones indirectas cumplen un rol clave en la estructuración de las comunidades y funcionamiento de los ecosistemas, y podrían ser importantes para explicar la invasión de especies exóticas. Las hormigas ordeñadoras de pulgones son excelentes modelos para examinar posibles efectos de las interacciones indirectas sobre la invasión de plantas. Por un lado, las hormigas disminuyen la adecuación de las plantas al aumentar la infestación y daño de los pulgones. Por otro lado, las hormigas incrementan la adecuación de las plantas al expulsar a los herbívoros no-pulgones. Estudié un ensamble de hormigas nativas (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*) que visitan cardos exóticos (*Carduus thoermeri*) en búsqueda de la melaza de pulgones (*Brachycaudus cardui*). Los cardos son además atacados por el curculiónido *Rhinocyllus conicus*. Evalué las relaciones entre la presencia y abundancia de cada una de estas especies y la producción de semillas del cardo. Determiné la agresividad de las hormigas hacia los depredadores de los pulgones (mariquitas y larvas de sífido) y curculiónidos. Para conocer si las hormigas expulsan de los cardos a los depredadores de los pulgones y curculiónidos, realicé experimentos de adición de estos insectos en tallos con hormigas y tallos sin hormigas. Además evalué si la exclusión de hormigas afecta la reproducción del cardo. Finalmente, mediante análisis de vías, examiné si las hormigas afectan la reproducción del cardo por la vía indirecta de los pulgones y/o curculiónidos. La proporción de semillas viables del cardo se asoció negativamente con la abundancia de la hormiga *D. tener*. En los enfrentamientos de laboratorio, *D. tener* fue la especie más agresiva tanto contra los depredadores de pulgones como contra los curculiónidos. En las pruebas de adición de insectos a campo, la hormiga *D. tener* expulsó con éxito a los depredadores de los pulgones de los cardos, pero no afectó a los curculiónidos. La exclusión de *D. tener* de

las plantas incrementó la proporción de semillas viables del cardo. Los análisis de vías apoyaron que el efecto de *D. tener* sobre la reproducción del cardo se debió a un efecto indirecto a través de los pulgones. Las especies de hormigas menos agresivas (*C. distinguendus* y *D. richteri*) no afectaron la reproducción del cardo. Mis resultados evidencian que las hormigas ordeñadoras agresivas pueden potenciar la resistencia biótica al aumentar la infestación y daño de los pulgones sobre las plantas. Este capítulo destaca la importancia de las interacciones bióticas indirectas en la invasión de especies.

PALABRAS CLAVE: Hormigas ordeñadoras, Interacciones indirectas, Plantas exóticas, Pulgones, Resistencia biótica

ABSTRACT

Indirect interactions play a key role in community structuring and ecosystem functioning, and could be important in explaining exotic species invasion. Aphid-tending ants are excellent models for examining the possible effects of indirect interactions on plant invasion. On the one hand, ants decrease plant fitness by enhancing aphid infestation and damage on plants. On the other hand, ants increase plant fitness by removing non-aphid herbivores from plants. I studied a native aphid-tending ant assemblage (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, and *D. richteri*) that visit exotic thistles (*Carduus thoermeri*) searching aphid honeydew (*Brachycaudus cardui*). Thistles are also attacked by the weevil *Rhinocyllus conicus*. I examined the relationships between the presence and abundance of each of these insect species and thistle seed set. I compared ant species aggressiveness towards aphid predators (ladybugs and hoverfly larvae) and weevils. I performed ant-exclusion experiments to determine the effects of ants on aphid predators, weevils, and thistle seed set. Finally, I analyzed whether ants affected thistle seed set through their effect on aphids and/or weevils. Seed set was negatively associated with the abundance of the ant *D. tener*, the most aggressive ant species. *D. tener* successfully removed aphid predators from plants but did not affect weevils. Excluding *D. tener* from plants positively affected seed set. Analyses supported a negative pathway between the aggressive *D. tener* and thistle seed set through aphid populations. The less aggressive ant species (*C. distinguendus* and *D. richteri*) did not affect thistle seed set. Collectively, results suggest that aggressive aphid-tending ant species may enhance biotic resistance by increasing aphid infestation and damage on exotic plants. This chapter emphasizes the importance of indirect biotic interactions in exotic species invasion.

KEYWORDS: Aphid, Aphid-tending ants, Biotic resistance, Exotic plants, Indirect interactions

INTRODUCCIÓN

Las interacciones entre especies exóticas y nativas pueden ser claves para explicar las invasiones de especies (Richardson *et al.* 2000; Mitchell *et al.* 2006). Estas interacciones pueden influir sobre el establecimiento, la naturalización, y la propagación de las especies exóticas (e.g., Nuñez *et al.* 2009; Prior *et al.* 2015). Sin embargo, determinar el impacto de las interacciones bióticas sobre la invasión de especies es complejo, ya que las especies introducidas suelen interactuar con varias especies locales a la vez y estas interacciones pueden tener efectos contrastantes sobre la adecuación de las exóticas. Así, el establecimiento de nuevos mutualismos (Richardson *et al.* 2000), la facilitación (Maron & Connors 1996; Farji-Brener & Ghermandi 2008), la alelopatía (Callaway & Ridenour 2004), y el ‘colapso invasivo’ (*invasional meltdown*; Simberloff & Von Holle 1999) son mecanismos con interacciones que potencian la invasión de especies. Mientras que la competencia (Eskelinen & Harrison 2014), la depredación (DeRivera *et al.* 2005), el parasitismo (Prider *et al.* 2011), y otras formas de resistencia biótica (Elton 1958; Maron & Vilà 2001; Paynter *et al.* 2012) son mecanismos con interacciones que disminuyen la invasión de especies. Por lo tanto, es fundamental examinar las vías y mecanismos de interacción entre las especies exóticas y locales a fin de comprender en profundidad la invasión de especies.

La intensidad y/o el signo de las interacciones bióticas pueden ser modulados por terceras especies y esto puede ser clave para explicar la invasión de especies (Strauss & Irwin 2004; Mitchell *et al.* 2006; Brody *et al.* 2008; Green *et al.* 2011). Así, aquellas hipótesis en ecología de invasiones que se sustentan en interacciones de a pares podrían verse modificadas por terceras especies (White *et al.* 2006). Por ejemplo, la hipótesis de la resistencia biótica (Elton 1958) afirma que las especies introducidas no invaden las comunidades nativas porque las interacciones bióticas con las especies

locales (por ejemplo, la competencia, la depredación y el parasitismo) reducen el establecimiento y propagación de las exóticas (Levine *et al.* 2004; Parker & Hay 2005). Si terceras especies aumentan los efectos negativos de las especies locales hacia las exóticas, el proceso de invasión podría estar aún más limitado (hipótesis de “Resistencia biótica indirecta”). Por otra parte, la hipótesis de la facilitación o mutualismo afirma que las especies locales (e.g., polinizadores y hongos micorrízicos) establecen interacciones beneficiosas para las especies exóticas facilitando su establecimiento y propagación (Richardson *et al.* 2000; Mitchell *et al.* 2006). En este caso, si terceras especies potencian dicha facilitación, el proceso de invasión debería verse incrementado (hipótesis de “Facilitación biótica indirecta”). Entonces, cuando una especie exótica es introducida a un nuevo hábitat no solo es importante verificar nuevas interacciones de pares con las especies locales, sino también examinar si terceras especies de la comunidad pueden modular dicha interacción.

Los mutualismos de protección a cambio de comida que establecen las hormigas con los pulgones son excelentes modelos para estudiar efectos moduladores de las especies locales sobre la invasión de plantas exóticas. Los pulgones son herbívoros que se alimentan de la savia de las plantas y que pueden causar limitación de recursos, daño en tejidos, infección de patógenos, y/o interferencia en la polinización (e.g., Larson & Whitham 1997; Chalcoff *et al.* 2019; Devegili & Chalcoff 2020). Los efectos negativos de los pulgones sobre la adecuación de las plantas pueden ser modulados por una amplia gama de especies que afectan a los pulgones de manera positiva (e.g., hormigas ordeñadoras e hiperparasitoides) o negativa (e.g., mariquitas, sírfidos, y parasitoides) (Dixon 1998); entre estas especies, las hormigas ordeñadoras de pulgones podrían desempeñar un papel clave modulando la invasión de plantas exóticas. Por un lado, las hormigas pueden estimular la tasa de alimentación y la fecundidad de los pulgones,

protegerlos contra sus enemigos naturales, y/o reducir la incidencia de sus patógenos (Banks & Nixon 1958; Stadler & Dixon 2008; Nielsen *et al.* 2010). El cuidado que brindan las hormigas puede, entonces, incrementar la infestación de los pulgones y aumentar los efectos negativos de los pulgones sobre las plantas (Canedo-Júnior *et al.* 2017; Ortega-Ramos *et al.* 2019). Por otra parte, las hormigas pueden expulsar de las plantas a herbívoros no-pulgón y con ello beneficiar a las plantas exóticas; en particular, si el papel antagonista de estos herbívoros sobre la planta es mayor que el de los pulgones (Crutsinger & Sanders 2005; Styrsky & Eubanks 2007). Además, teniendo en cuenta que varias especies de hormigas pueden ordeñar a una misma especie de pulgón y que las especies de hormigas usualmente varían en su calidad y cantidad de defensa (Sipura 2002; Ness *et al.* 2006; Mooney & Mandal 2010; Yoo *et al.* 2013), el resultado neto de las hormigas ordeñadoras sobre la adecuación e invasión de las plantas exóticas también puede estar influido por la identidad de las hormigas que visitan las plantas. Por lo tanto, para predecir el impacto de las hormigas ordeñadoras sobre el proceso de invasión de las plantas exóticas, es importante identificar sus efectos indirectos sobre las plantas y determinar si dicho efecto varía con la identidad de la especie de hormiga involucrada.

Carduus thoermeri (cardo pendiente; Asteracea) es una planta invasora que produce grandes pérdidas económicas en la agricultura y ganadería (Desrochers *et al.* 1988; Popay & Medd 1990; Wardle *et al.* 1991). En el NO de la Patagonia (Argentina), *C. thoermeri* es atacada por el pulgón *Brachycaudus cardui* (Hemiptera: Aphididae) que es atendido por un gremio de hormigas ordeñadoras nativas (Lescano & Farji-Brener 2011). El crecimiento poblacional de *B. cardui* depende de la especie de hormiga ordeñadora que lo esté atendiendo; siendo el crecimiento poblacional mayor cuando los pulgones son atendidos por la especie de hormiga más agresiva y abundante del

ensamble (ver CAPÍTULO 2). Además de los pulgones, los cardos son atacados por el curculiónido *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae), un agente de biocontrol introducido en la Argentina para controlar las especies exóticas del género *Carduus* (Enrique de Briano *et al.* 2013). Realicé un análisis comparativo junto con experimentos de campo y de comportamiento para examinar si las hormigas ordeñadoras influyen sobre las interacciones entre los cardos y sus principales herbívoros: el pulgón *B. cardui* y el curculiónido *R. conicus*.

Aunque la importancia ecológica de las hormigas ordeñadoras está muy bien documentada (Styrsky & Eubanks 2007; Zhang *et al.* 2012), se desconoce si las hormigas ordeñadoras son relevantes en la invasión de plantas exóticas. Aquí examiné dos hipótesis (Fig. 3.1): i) Resistencia biótica indirecta: bajo este escenario, espero que las hormigas ordeñadoras disminuyan la adecuación de la planta exótica *C. thoermeri* al aumentar la abundancia y daño de los pulgones sobre las plantas (Fig. 3.1, rama superior), y ii) Facilitación biótica indirecta: bajo este escenario, espero que las hormigas ordeñadoras incrementen la adecuación de *C. thoermeri* al remover a los herbívoros no-pulgón de las plantas (Fig. 3.1, rama inferior). Si las consecuencias sobre la reproducción de *C. thoermeri* de la protección de las hormigas sobre los pulgones son más fuertes que las de la supresión de los curculiónidos, espero encontrar un efecto indirecto negativo de las hormigas sobre la reproducción del cardo (i.e., apoyo a la hipótesis de la “Resistencia biótica indirecta”). Por el contrario, si la herbivoría de los curculiónidos afecta más la adecuación de la planta que la de los pulgones, al expulsar las hormigas a estos herbívoros espero encontrar un efecto positivo de las hormigas sobre la reproducción del cardo (i.e., apoyo a la hipótesis de la “Facilitación biótica indirecta”). Además, como la agresividad y abundancia de las hormigas es un buen estimador de la defensa provista a los pulgones frente a sus depredadores (ver CAPÍTULO

2), espero que la especie más agresiva y abundante del gremio de hormigas ordeñadoras tenga el mayor efecto sobre la reproducción del cardo, sea este efecto por la vía de los pulgones y/o curculiónidos.

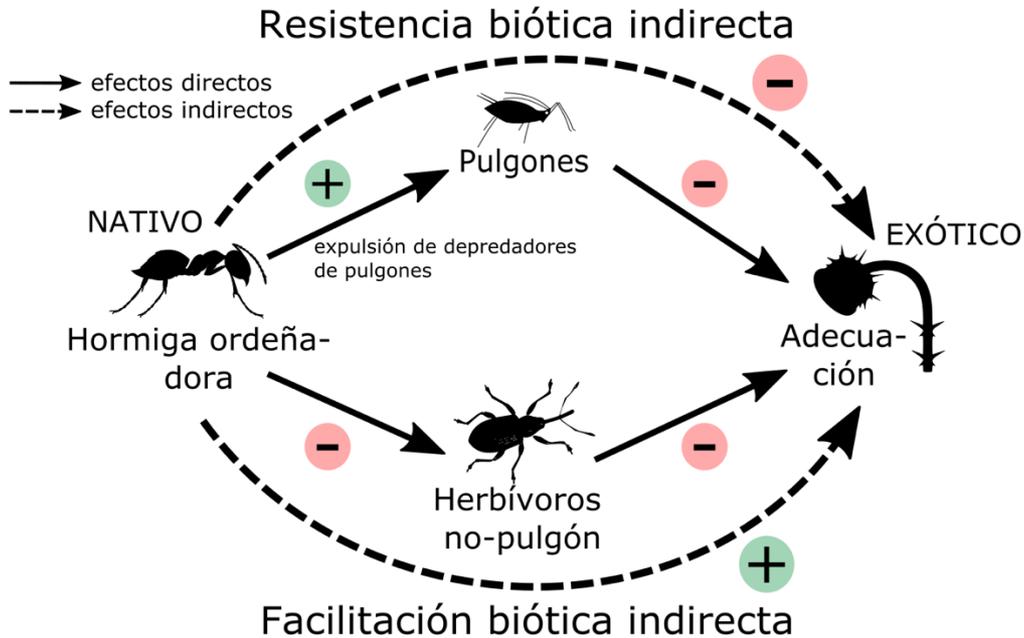


FIG. 3.1 Posibles efectos directos e indirectos entre las hormigas ordeñadoras y las plantas exóticas con pulgones. Proponemos dos hipótesis: 1) la **Resistencia biótica indirecta** (rama superior) ocurre cuando las hormigas ordeñadoras aumentan la abundancia y el daño de los pulgones, lo que disminuye la adecuación de la planta exótica. 2) la **Facilitación biótica indirecta** (rama inferior) ocurre cuando las hormigas ordeñadoras expulsan a los herbívoros no-pulgón, lo que aumenta la adecuación de la planta. Como las hipótesis no son mutuamente excluyentes, si ambas vías ocurren en simultáneo, el efecto neto de las hormigas sobre la adecuación de la planta exótica podría ser neutro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de estudio

Para detalles del área de estudio, ver la sección *Sitio de estudio* del CAPÍTULO 1.

En el CAPÍTULO 2 mostré que las hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*) tienen distinta abundancia sobre las plantas y distinta agresividad hacia los depredadores de pulgones. *Dorymyrmex tener* es la especie más abundante sobre los cardos y más agresividad hacia los depredadores de pulgones. Además, *D. tener* protege eficazmente a los pulgones contra sus depredadores

naturales sobre las plantas y las poblaciones de pulgones crecen más rápido en los cardos con la hormiga *D. tener* que en los cardos con las otras especies de hormigas.

Brachycaudus cardui forma grupos de forrajeo sobre los tallos, hojas, y brácteas del cardo. Los grupos de forrajeo son fácilmente distinguibles y delimitables sobre los tallos de los cardos (en adelante ‘grupo de pulgones’; Fig. 3.2).

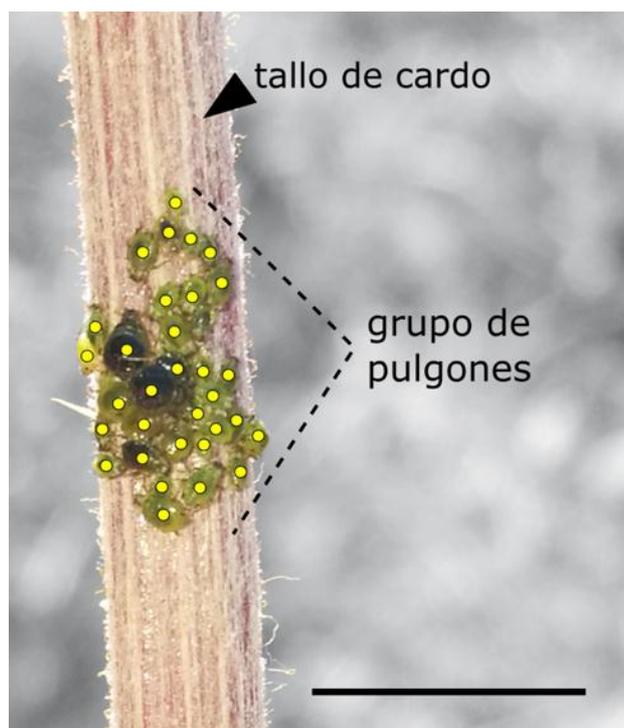


FIG. 3.2 Pulgón del cardo (*Brachycaudus cardui*) sobre tallo del cardo pendiente (*Carduus thomereri*). *B. cardui* suele formar grupos de forrajeo sobre los tallos del cardo y estos grupos son fácilmente reconocibles y delimitables. Para contar los pulgones, tomé fotografías de los grupos de forrajeo y agregué puntos amarillos a cada individuo con ImageJ Software®. Barra de escala: 1 cm. Crédito de la foto: Andrés M Devegili

Rhynocillus conicus es un curculiónido originario de Europa y Asia occidental que se utiliza como agente de biocontrol contra especies vegetales invasoras del género *Carduus* (Boldt & Kok 1982). En Argentina, fue introducido en la década de 1980 como método de control de las especies *C. thomereri* y *C. acanthoides* (Enrique de Briano et al. 2013).

Para más detalles de las hormigas ordeñadoras, pulgones, y *R. conicus*, ver la sección *Sistema de estudio* del CAPÍTULO 1.

Describiendo el patrón: relación entre la presencia de pulgones, curculiónidos, y hormigas, y la reproducción del cardo

Para examinar si la presencia y abundancia de pulgones, curculiónidos, y hormigas ordeñadoras influyen sobre la adecuación del cardo (*C. thoermeri*), en un parche de cardos de 3200 m², seleccioné y marqué al azar rosetas de cardo (N = 215) y las muestreé durante todo su ciclo de vida (12 muestreos a lo largo de 2 años). Los muestreos los hice con menor frecuencia (cada 3 meses) durante el otoño e invierno que durante la primavera y verano (cada 15 días) porque los insectos son más abundantes y están más activos durante las estaciones más cálidas. En cada muestreo, identifiqué y estimé las abundancias de los pulgones y hormigas sobre los cardos. Para estimar la abundancia de pulgones, multipliqué el número de grupos de pulgones sobre una planta por el número promedio de pulgones en un grupo. Para estimar el número promedio de pulgones en un grupo, seleccioné al azar de 1-3 grupos de pulgones por cardo, los fotografié, y luego conté los individuos con ImageJ Software® (Schneider *et al.* 2012; ver ejemplo en Fig. 3.2). Para determinar la abundancia de hormigas sobre los cardos conté visualmente a todas las obreras sobre la planta. Para estimar la abundancia de hormigas durante todo el ciclo de vida de los cardos, usé el promedio de los doce conteos de hormigas. Estimé la abundancia del curculiónido *R. conicus* como la cantidad de curculiónidos por inflorescencias de cardo. Colecté inflorescencias de cardo (N = 1-3 por planta) y en el laboratorio las abrí y conté el número de curculiónidos. En aquellas plantas en las que colecté más de una inflorescencia, obtuve el promedio de curculiónidos por inflorescencia. El número de curculiónidos adultos dentro de las inflorescencias refleja aquellos individuos que lograron completar su ciclo de vida. Conocer dicho número es clave, ya que la fase de larva es la más dañina para la

reproducción de los cardos (para más detalles, ver la sección *Controlador biológico de cardos* del CAPITULO 1). A los cardos sin hormigas en todos los muestreos los categoricé como ‘plantas sin hormigas’ (N = 61) y dentro de esta categoría encontré: i) cardos sin pulgones y sin curculiónidos (N = 12), ii) cardos con pulgones y sin curculiónidos (N = 15), iii) cardos sin pulgones y con curculiónidos (N = 16), y iv) cardos con pulgones y con curculiónidos (N = 18). Los cardos que hospedaron una sola especie de hormiga en $\geq 50\%$ de los muestreos y en el resto de los muestreos estuvieron libres de hormigas, los categoricé como ‘cardos con hormigas’. A su vez a esta última categoría la dividí en subcategorías según la especie de hormiga (*D. tener*: N = 73, *C. distinguendus*: N = 31, y *D. richteri*: N = 24). Como mi objetivo fue medir el efecto individual de cada especie de hormiga sobre los cardos, no incluí en el análisis las plantas que albergaban más de una especie de hormigas en el mismo censo (N = 5) ni las plantas con reemplazo de especies de hormigas durante los censos (N = 21). Los cardos ocupados por hormigas, pulgones, y/o curculiónidos estaban entremezclados de manera natural en el lugar del estudio. De esta manera, es justo asumir que las condiciones ambientales (e.g., calidad del suelo, luz, agua) fueron similares para todas las categorías descritas. Para estimar la proporción de semillas viables, al final de la temporada reproductiva del cardo embolsé 1-2 inflorescencias por planta y colecté las bolsas poco después de la liberación de las semillas. Las bolsas evitaron la pérdida de semillas debido al viento y las coloqué dos meses después del pico de apareamiento de *R. conicus*; por lo tanto, las bolsas no interfirieron con la reproducción y oviposición de *R. conicus* sobre los cardos. En el laboratorio, conté los curculiónidos adultos en las inflorescencias. Liberé las semillas de los capítulos y las clasifiqué en viables y no viables (Fig. 3.3).



FIG. 3.3 Comparación de las semillas viables vs. no viables del cardo *Carduus thoermeri* (cardo pendiente, Asteraceae). Notar la diferencia en el tamaño y la forma entre las semillas viables y no viables. El estado viable e inviable se basa en ensayos de germinación en placas de Petri (porcentaje de germinación: semillas viables = 74 ± 10 %, semillas inviables = 0 %). Para determinar el poder reproductivo del cardo calculé la proporción de semillas viables dividiendo el número de semillas viables por el número total de semillas

Luego, fotografié las semillas y las conté en el programa ImageJ Software®. Estimé la reproducción de los cardos como la proporción de semillas viables en una inflorescencia:

$$\text{proporción de semillas viables} = \frac{\text{No. semillas viables}}{\text{No. semillas viables} + \text{No. semillas no viables}}$$

Para comparar la reproducción de los cardos en sus cuatro condiciones ‘sin hormigas’ (i.e., “sin pulgones y sin curculiónidos”, “con pulgones y sin curculiónidos”, “sin pulgones y con curculiónidos”, y “con pulgones y con curculiónidos”), use un GLM. Como los datos estaban sobre-dispersos, utilicé una distribución de error cuasibinomial (link: logit) (Zuur *et al.* 2009). Como prueba post-hoc, usé la prueba de Tukey HSD. Además, examiné si hay interacción entre el efecto de pulgones y curculiónidos sobre la proporción de semillas viables del cardo. Para examinar las relaciones entre la abundancia de las hormigas vs. la reproducción de los cardos o vs. la abundancia de pulgones (o curculiónidos), utilicé pruebas de correlación (prueba de

correlación de Pearson; Puth *et al.* 2014). Los análisis los hice en R (R Core Team 2015).

Experimentos de laboratorio: agresividad de las hormigas hacia los depredadores de pulgones y curculiónidos

Utilicé los datos del CAPÍTULO 2 de agresividad de las especies de hormigas hacia los depredadores de pulgones. Y los complementé con nuevos datos de agresividad de las hormigas hacia el curculiónido *R. conicus*.

Para realizar los enfrentamientos entre hormigas y *R. conicus*, seguí el método de la sección *Agresividad de las hormigas frente a los depredadores de pulgones* del CAPÍTULO 2. Junté hormigas (~200 hormigas por especie) y curculiónidos (*R. conicus*, N = 85) en una zona de estepa con cardos adyacente al sitio de muestreo. Colecté únicamente hormigas y curculiónidos que se encontraban sobre cardos. Para tener en cuenta la variación intra-específica de la agresividad de las hormigas, colecté hormigas sobre cardos distanciados al menos a 30 m (5-8 cardos por especie de hormiga; para más detalles ver la sección *Agresividad de las hormigas frente a los depredadores de pulgones* del CAPÍTULO 2). A las hormigas las mantuve en condiciones controladas de laboratorio, siguiendo la misma metodología descrita en el CAPÍTULO 2. A los curculiónidos los alojé en recipientes de plásticos (10 x 8 x 5 cm) donde tenían agua *ad libitum* (algodón humedecido). A los curculiónidos los alimenté con una hoja de cardo cada 5 días. Los enfrentamientos entre hormigas y curculiónidos los hice en una “arena de combate” (ver detalles de la arena de combate en el CAPÍTULO 2). El número de enfrentamientos entre las especies de hormigas y los curculiónidos varió entre 26 y 31 (dependiendo de la especie de hormiga). Cada confrontación entre hormigas y curculiónidos duró 4 min: tras un tiempo de habituación de 1 min, quité el tabique y

grabé la confrontación durante los 3 min restantes (vídeo con 20x ampliación). Para caracterizar la eficiencia del ataque de las hormigas hacia a los curculiónidos, medí el tiempo hasta el primer contacto entre ambos insectos (en adelante, tiempo de encuentro). Identifiqué seis comportamientos de las hormigas: i) ‘huida’; ii) ‘antenación’; iii) ‘amenaza’; iv) ‘mordida corta’; v) ‘mordida’; vi) ‘flexión del abdomen’ (Apéndice, Video A3.1; para más detalles de los comportamientos ver el CAPÍTULO 2). Puntué la agresividad de las hormigas con el índice de agresividad descrito en el CAPÍTULO 2.

Para comparar los índices de agresividad de las especies de hormigas, utilicé un ANOVA de dos vías (función *Anova* del paquete de R 'car'; Fox *et al.* 2012) con las especies de hormigas (niveles: *D. tener*, *C. distinguendus*, y *D. richteri*) y el tipo de contrincante (niveles: depredadores de pulgones o curculiónidos) como variables explicativas. En el nivel “depredadores de pulgones”, agrupé las confrontaciones de las hormigas contra las mariquitas y larvas de sírfidos. Para cumplir con los supuestos de normalidad, hice una transformación logarítmica del índice de agresividad. Para comparar el tiempo de encuentro de las especies de hormigas frente a los curculiónidos o depredadores de pulgones, utilicé un GLM. Como prueba post-hoc usé la prueba de Tukey HSD. Los análisis los hice en R.

Experimentos de campo: efectos de las hormigas más agresivas sobre los depredadores de pulgones, curculiónidos, y la proporción de semillas viables del cardo

Para examinar i) si las hormigas son capaces de expulsar a los curculiónidos de los cardos en igual medida que a los depredadores de pulgones y ii) si la exclusión de las hormigas de los cardos afecta la proporción de semillas viables del cardo, realicé experimentos a campo con la especie de hormigas más agresiva (*D. tener*). Seleccioné

cardos ($N = 30$) naturalmente infestados con *B. cardui* y patrullados por *D. tener*. Los cardos que seleccioné eran de tamaño similar, mismo estadio fenológico, y se encontraban muy cerca unos de otros, por lo que es justo asumir que compartían mismas condiciones ambientales y del suelo. En cada planta seleccioné dos tallos similares. Excluí las hormigas en un tallo (tratamiento de exclusión de hormigas) y dejé las hormigas sin perturbar en el otro tallo (tratamiento control). Las hormigas las excluí siguiendo la metodología descrita en el CAPÍTULO 2. Para comprobar si las hormigas son capaces de expulsar a los curculiónidos de los cardos, seleccioné un grupo de pulgones en cada tallo y pinté con un marcador permanente un punto de referencia a 2 cm de distancia de dicho grupo. A continuación, utilizando pinzas suaves coloqué en el punto de referencia un curculiónido (Apéndice, Video A3.2). Cada experimento duró 5 minutos. Consideré la “expulsión exitosa” cuando la interacción entre hormigas y curculiónido provocó la caída o huida del curculiónido de la planta. Consideré la “expulsión no exitosa” cuando el curculiónido permaneció en la planta durante todo el ensayo (Apéndice, Video A3.2). Para saber si las hormigas expulsan curculiónidos en mayor medida que a los depredadores de pulgones, comparé las probabilidades de expulsión de los curculiónidos con las probabilidades de expulsión de los depredadores de pulgones calculadas en el CAPÍTULO 2.

Para probar si la exclusión de las hormigas impacta sobre la proporción de semillas viables del cardo, seleccioné cardos infestados naturalmente por *B. cardui* y patrullados por *D. tener* ($N = 20$) y en cada planta seleccioné dos tallos similares y excluí las hormigas en uno de ellos y dejé el otro de control. Dos meses más tarde, colecté 1-2 inflorescencias por tallo y determiné la proporción de semillas viables [No. de semillas viables/(No. semillas viables + No. semillas no viables)]. También estimé la densidad de pulgones (individuos/cm²) en cada tallo. Para estimar la densidad de

pulgonos, seleccioné al azar un grupo de pulgonos en cada tallo y conté los pulgonos con fotos procesadas en ImageJ Software®. Estimé además el área ocupada por el grupo de pulgonos. Con estos datos estimé la densidad de pulgonos (tres muestreos cada 15 días a partir de la exclusión de hormigas) y luego promedié las densidades. Para analizar si las hormigas expulsan a los curculiónidos de los tallos, usé regresiones logísticas (GLM, distribución de error: binomial). Para probar el efecto del tratamiento de exclusión de hormigas sobre la proporción de semillas viables, usé un GLM (distribución de error: cuasibinomial). Para examinar el efecto del tratamiento de exclusión de hormigas sobre la densidad de pulgonos, usé un GLM (distribución de error: binomial negativa). Los análisis los hice en R. Comprobé que los modelos empleados cumplieren con los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

Efectos indirectos de las hormigas sobre la reproducción del cardo

Para examinar las hipótesis de "Resistencia biótica indirecta" y "Facilitación biótica indirecta" (Fig. 3.1), realicé análisis de vías basados en modelos de ecuaciones estructurales (Grace 2006). Basándome en mi conocimiento del sistema de estudio y en los resultados de otros estudios sobre hormigas y pulgonos, propuse un modelo *a priori* con las relaciones esperadas entre las variables bióticas: hormigas (variable raíz), depredadores de pulgonos, pulgonos, curculiónidos, y proporción de semillas viables (Fig. 3.7a; Apéndice, Fig. A3.1). Para examinar si el modelo *a priori* se ajusta a mis datos, utilicé el estadístico chi-cuadrado χ^2 y el índice de corrección comparativa CFI, ambos propuestos por Grace (2006) (χ^2 : un valor $P < 0.05$ indica un desajuste entre el modelo y los datos; CFI: CFI ~ 1 indica un buen ajuste del modelo y CFI ~ 0 indica que no hay ajuste del modelo). Los coeficientes del análisis de vías los obtuve mediante la técnica de estimación de máxima verosimilitud (Grace 2006). Estos coeficientes son

equivalentes a los coeficientes de regresión parcial estandarizados y se interpretan como efectos relativos de una variable sobre otra (Grace 2006). La variable "depredadores de pulgones" son los datos agrupados de la abundancia de mariquitas adultas y de larvas de sírfido. Las abundancias de los depredadores de pulgones las determine en seis muestreos sobre los cardos (N = 215) durante tres meses. Las variables "hormigas" y "pulgones" corresponden a la abundancia media de hormigas y pulgones en doce muestreos de los mismos cardos. La variable "pulgones" corresponde a la abundancia del pulgón *B. cardui* y "curculiónidos" a la abundancia de adultos de *R. conicus* en las inflorescencias del cardo (N= 2-3 inflorescencias por cardo). El modelo de vías me permite examinar las vías directas e indirectas que conectan a las hormigas (*D. tener*, *C. distinguendus*, o *D. richteri*) y la reproducción del cardo. Para estimar la reproducción del cardo use la proporción de semillas viables. En el modelo de vías, la "Resistencia biótica indirecta" es la vía que une a las hormigas, depredadores de pulgones, pulgones, y la reproducción del cardo (Fig. 3.7a, rama superior). Y la "Facilitación biótica indirecta" es la vía que une a las hormigas, el curculiónido *R. conicus*, y la reproducción del cardo (Fig. 3.7a, rama inferior). Construí los análisis de vías y examiné su bondad de ajuste con los paquetes lavaan y AICcmodavg en R (Mazerolle 2013; Rosseel 2012).

RESULTADOS

Describiendo el patrón: relación entre la presencia de pulgones, curculiónidos, y hormigas, y la reproducción del cardo

El pulgón *B. cardui* estuvo en el 69% de los cardos muestreados con una abundancia de 70.7 ± 6.6 pulgones por planta (media \pm EE). El curculiónido *R. conicus* estuvo en el 36% de las inflorescencias con una abundancia de 1.4 ± 0.24 curculiónidos por inflorescencia (media \pm EE). Los cardos con pulgones o con curculiónidos (i.e.,

condiciones ‘con pulgones y sin curculiónidos’ y ‘sin pulgones y con curculiónidos’) mostraron respectivamente una reducción de 19.8% y 28.4% en la proporción de semillas viables respecto a los cardos sin éstos herbívoros (GLM, ‘con pulgones y sin curculiónidos’: $LR\chi^2 = 18.48$, $gl = 1$, $P < 0.001$, ‘sin pulgones y con curculiónidos’: $LR\chi^2 = 15.03$, $gl = 1$, $P < 0.001$; Fig. 3.4a). Los cardos con pulgones y curculiónidos (i.e., condición ‘con pulgones y con curculiónidos’) mostraron una reducción de 49.4% en la proporción de semillas viables respecto a los cardos sin estos herbívoros (GLM, ‘con pulgones y con curculiónidos’: $LR\chi^2 = 14.28$, $gl = 1$, $P < 0.001$; Fig. 3.4a). No hubo interacción entre el efecto de pulgones y curculiónidos sobre la proporción de semillas viables del cardo (GLM, ‘con pulgones y sin curculiónidos’*‘sin pulgones y con curculiónidos’: $LR\chi^2 = 2.44$, $gl = 1$, $P = 0.12$). Las hormigas estuvieron presentes en el 62% de los cardos muestreados, en particular, *D. tener* en el 33%, *C. distinguendus* en el 16%, y *D. richteri* en el 13%. La abundancia promedio de hormigas en los doce muestreos (media \pm SE) fue de 16 ± 2 para *D. tener*, 5 ± 2 para *C. distinguendus*, y 3 ± 1 para *D. richteri*. La abundancia de *D. tener* se correlacionó negativamente con la proporción de semillas viables del cardo (prueba de correlación, $r = -0.45$, $t = -4.21$, $gl = 73$, $P < 0.001$; Fig. 3.4b). Las abundancias de *C. distinguendus* y *D. richteri* no se correlacionaron con la proporción de semillas viables del cardo. La abundancia de *D. tener* se correlacionó positivamente con la abundancia de pulgones sobre los cardos (prueba de correlación, $r = 0.72$, $t = 8.66$, $gl = 73$, $P < 0.001$), mientras que las abundancias de *C. distinguendus* y *D. richter* no se correlacionaron con la abundancia de pulgones (Fig. 3.4c). Ninguna de las especies de hormigas mostró correlación entre sus abundancias y la abundancia de curculiónidos en las inflorescencias (prueba de correlación, *D. tener*: $P = 0.06$, *C. distinguendus*: $P = 0.47$, *D. richteri*: $P = 0.49$; Fig. 3.4d).

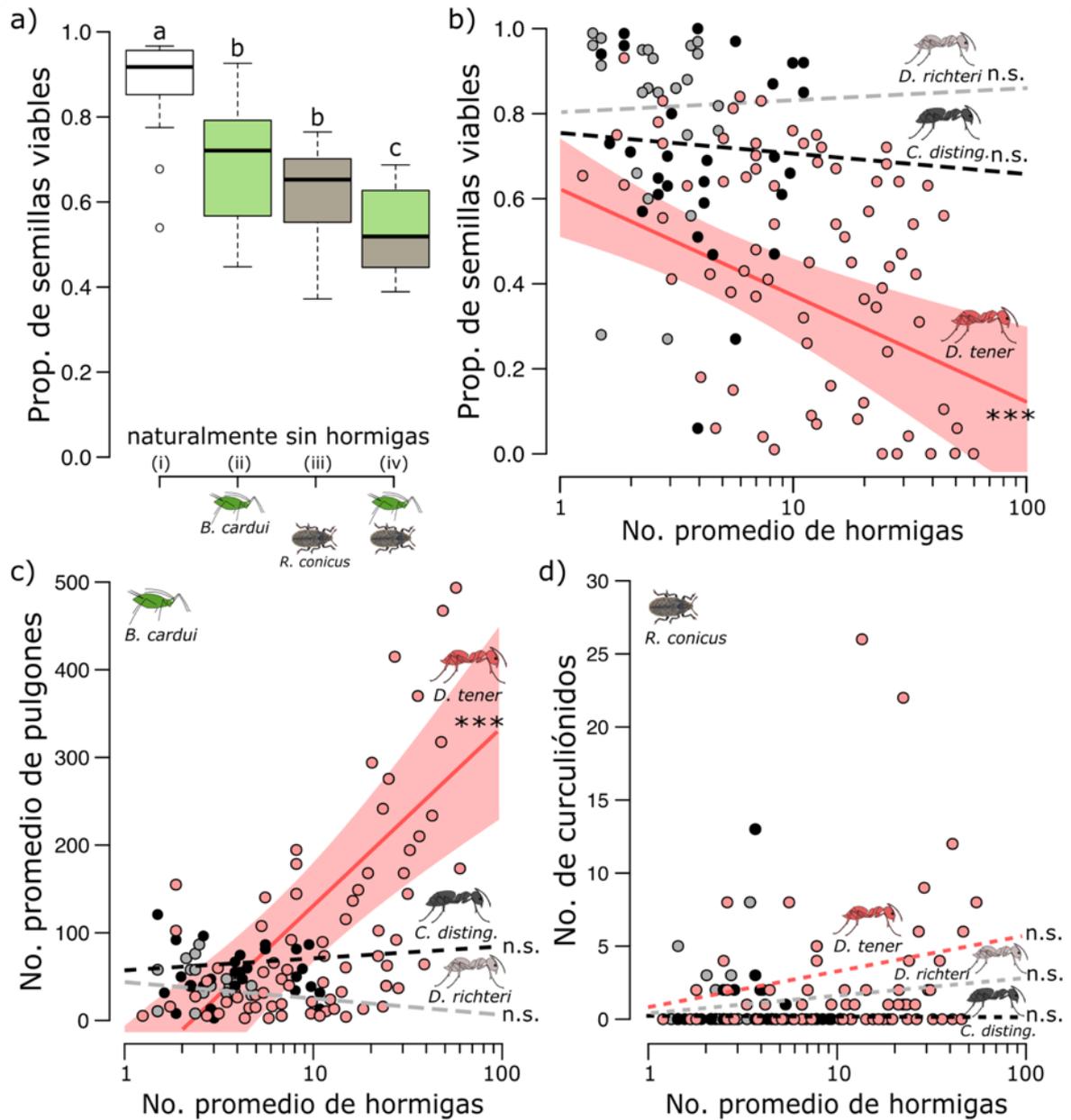


FIG. 3.4 Describiendo el patrón en el campo. a) Comparación de la proporción de semillas viables del cardo invasor *Carduus thomeri* en diferentes condiciones naturales de carga de herbívora: i) “sin pulgones y sin curculiónidos” (N = 12), ii) “con pulgones y sin curculiónidos” (N = 15), iii) “sin pulgones y con curculiónidos” (N = 16), y iv) “con pulgones y con curculiónidos” (N = 18). En todas las condiciones el pulgón es *Brachycaudus cardui* y el curculiónido *Rhinocyllus conicus*. Para aislar el efecto de estos dos herbívoros sobre las semillas, consideré solo los cardos libres de hormigas. Los grupos que comparten letra minúscula no son significativamente diferentes (prueba de Tukey HSD siguiendo al GLM). b) Correlación entre las abundancias de las especies de hormigas ordeñadoras de pulgones y la proporción de semillas viables del cardo: rojo = *Dorymyrmex tener*, negro = *Camponotus distinguendus*, y gris = *D. richteri*. Los puntos son plantas. Solo muestro la sombra de error (95% CI, siguiendo GLM) si la correlación es significativa (prueba de Pearson; *** P < 0.001, n. s. = no significativo). El número promedio de hormigas es la abundancia promedio de hormigas en doce muestreos. c) Correlaciones entre las abundancias de las especies de hormigas y el número promedio de pulgones sobre los

cardos (promedio de la abundancia de pulgones en doce muestreos). Los análisis son iguales a los de b). d) Correlaciones entre las abundancias de las especies de hormigas y el número de curculiónidos en la inflorescencia del cardo. Los análisis son iguales a los de b)

Experimentos de laboratorio: agresividad de las hormigas hacia los depredadores de pulgones y curculiónidos

Las hormigas mostraron distinta agresividad, la cual dependió de la especie de hormiga y del tipo de enemigo (GLM, especie de hormiga: $LR\chi^2 = 466.69$, $gl = 2$, $P < 0.001$; tipo de enemigo: $LR\chi^2 = 6,92$, $gl = 1$, $P = 0.008$). La hormiga *D. tener* fue la más agresiva tanto contra los depredadores de pulgones como contra el curculiónido *R. conicus* (Fig. 3.5). La hormiga *C. distinguendus* mostró niveles intermedios de agresividad, y *D. richteri* fue la menos agresiva (Fig. 3.5). Además, *D. tener* mostró una mayor agresividad contra los depredadores de pulgones que contra el curculiónido *R. conicus* (GLM, tipo de enemigo: $LR\chi^2 = 6,92$, $gl = 1$, $P = 0.008$; Fig. 3.5). La hormiga *D. tener* exhibió mayormente comportamientos agresivos ('amenaza', 'mordida corta' y 'mordida larga') contra los enemigos de pulgones; mientras que exhibió mayormente comportamientos pasivos ('antenación') contra el curculiónido *R. conicus* (Apéndice, Fig. A3.2a,b). Las hormigas *C. distinguendus* y *D. richteri* mostraron mayormente comportamientos pasivos ('antenación') y evasivos ('huida') tanto hacia los depredadores de pulgones como hacia el curculiónido *R. conicus* (Apéndice, Fig. A3.2a,b). Las especies de hormigas difirieron en el tiempo de encuentro con los depredadores de pulgones (GLM, $LR\chi^2 = 70.3$, $gl = 2$, $P < 0.001$) y el curculiónido *R. conicus* (GLM, $LR\chi^2 = 81.99$, $gl = 2$, $P < 0.001$); siendo *D. tener* la especie más rápida en contactar a los depredadores de pulgones y al curculiónido *R. conicus* (Apéndice, Fig. A3.2c,d).

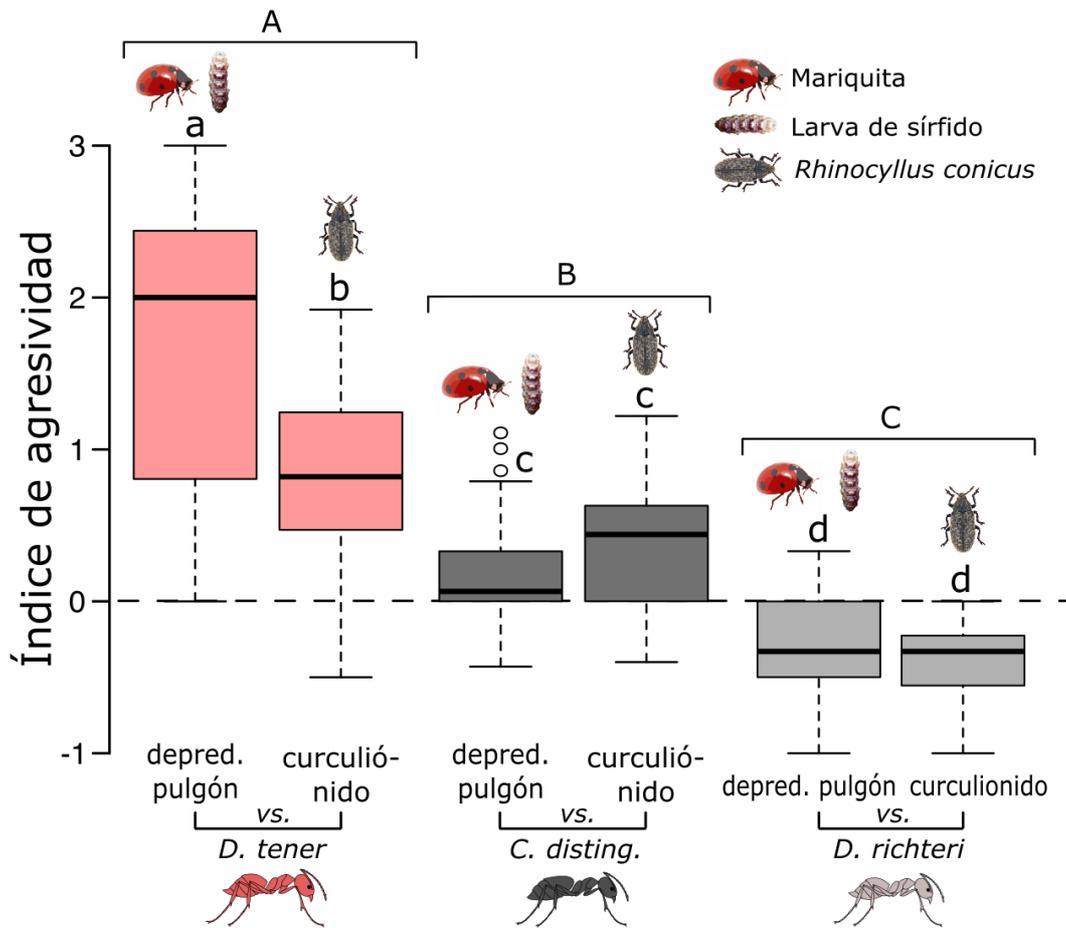


FIG. 3.5 Experimentos de laboratorio: agresividad de las especies de hormigas ordeñadoras de pulgones hacia los depredadores naturales de pulgones y hacia los curculiónidos. Comparación de los índices de agresividad de las especies de hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*) en enfrentamientos contra depredadores de pulgones (se muestran los datos reunidos de cuatro especies de mariquitas y dos especies de sírfidos; ver Capítulo 1) y contra curculiónidos de cardos (*Rhinocyllus conicus*). El índice de agresividad adopta valores desde +3 (comportamiento agresivo) a -1 (comportamiento evasivo). Rango de tamaño de la muestra para las especies de hormigas y para cada enemigo: 26 a 31 ensayos. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre todos los grupos y las letras mayúsculas entre las especies de hormigas (prueba Tukey HSD siguiendo ANOVA de dos vías)

Experimentos de campo: efectos de las hormigas más agresivas sobre los depredadores de pulgones, curculiónidos, y la proporción de semillas viables del cardo

Al adicionar depredadores de pulgones o curculiónidos a los tallos sin hormigas (i.e., tratamiento exclusión de hormigas), estos permanecieron sobre la planta durante todo el ensayo. En los tallos con hormigas (*D. tener*), los depredadores de pulgones fueron

expulsados por las hormigas y la probabilidad de expulsión aumentó con la abundancia de hormigas sobre el tallo (GLM, $z = 7.16$, $P < 0.001$) (Fig. 3.6a). Una probabilidad de expulsión de los depredadores del 80% se alcanzó cuando hubo ~20 hormigas sobre el tallo. Los curculiónidos no fueron expulsados al adicionarlos a los tallos con hormigas (GLM, $z = 1.29$, $P = 0.20$) (Fig. 3.6a).

Luego de dos meses de exclusión de hormigas (*D. tener*) de los tallos, la proporción de semillas viables aumentó un 29% respecto a los tallos con hormigas (GLM, $LR\chi^2 = 5.72$, $gl = 1$, $P = 0.02$; Fig. 3.6b panel inferior). Además, en los tallos con exclusión de hormigas disminuyó la densidad de pulgones en un 26% respecto a los tallos con hormigas (GLM, $LR\chi^2 = 5.43$, $gl = 1$, $P = 0.02$; Fig. 3.6b panel superior).

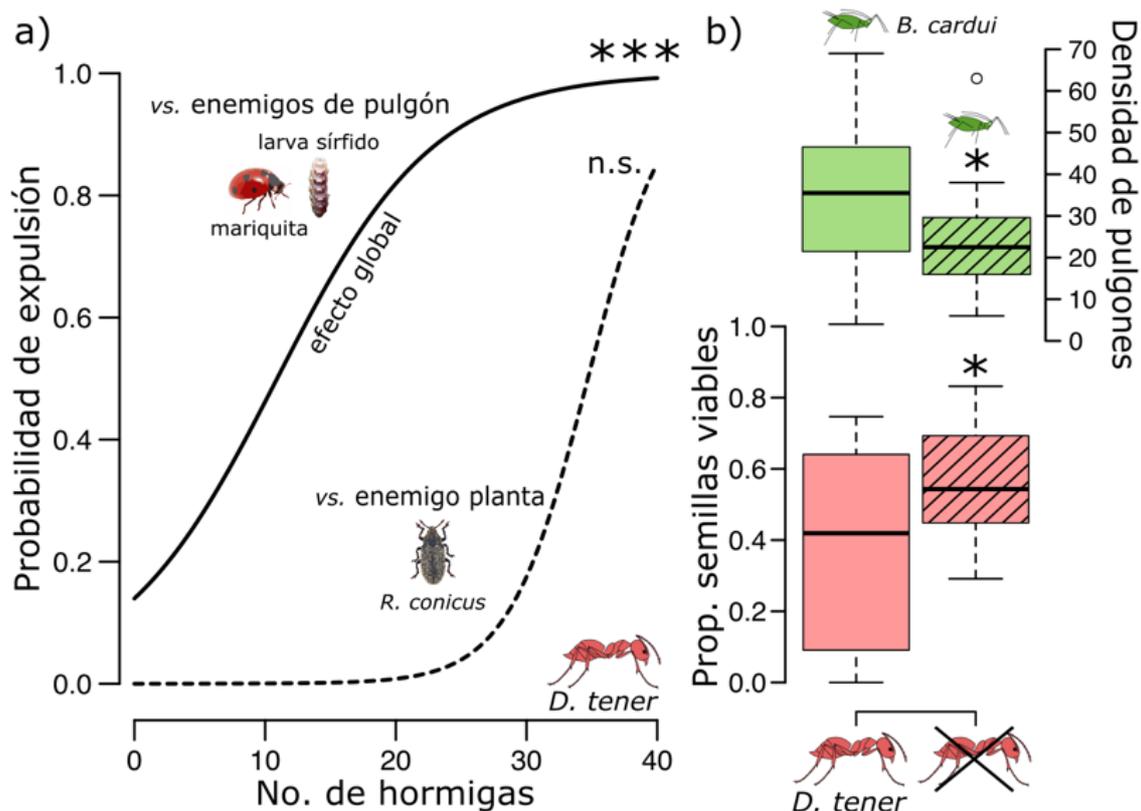


FIG. 3.6 Experimentos de campo: efecto de la especie de hormiga ordeñadora más agresiva (*Dorymyrmex tener*) sobre los depredadores de pulgones, curculiónidos, y la proporción de semillas viables del cardo. a) Relación entre la abundancia de *D. tener* y la probabilidad de expulsión de los depredadores de pulgones (datos agrupados de cuatro especies de mariquitas y dos especies de sírfidos; línea continua; $N = 191$) y la probabilidad de expulsión de los curculiónidos (*Rhinocyllus conicus*; línea discontinua; $N = 30$). *** $P < 0.001$, n. s. = no significativo (siguiendo regresiones logísticas). Ni los

depredadores pulgones ni los curculiónidos se cayeron (o volaron) deliberadamente cuando se colocaron en los tallos con exclusión de hormigas (N = 10-19 ensayos por cada especie; datos no graficados). b) Efecto de la exclusión de *D. tener* sobre la densidad de pulgones (panel inferior) y la proporción de semillas viables del cardo (panel superior). Los tratamientos de exclusión de hormigas (cajas rayadas) y de control (cajas sólidas) se hicieron en diferentes tallos de un mismo cardo (N = 20). La densidad media de pulgones (*número de individuos/cm²*) es el valor medio de tres muestreos. * P < 0.05, *** P < 0.001 (siguiendo GLM)

Efectos indirectos de las hormigas sobre la reproducción del cardo

El modelo *a priori* (Fig. 3.7a; Apéndice, Fig. S3) se ajustó a los datos, como indican las pruebas de bondad de ajuste empleadas ($\chi^2 = 24.66$, P = 0.16, df = 4; CFI = 0.87). El análisis de vías apoyó la hipótesis de "Resistencia biótica indirecta" para la hormiga *D. tener* (Fig. 3.7b). Eso se sustenta en que (1) la abundancia de *D. tener* se asoció negativamente con la abundancia de depredadores de pulgones (Análisis de vías, P < 0.001, R² = 0.12), (2) la abundancia de depredadores de pulgones se asoció negativamente con la abundancia de pulgones (Análisis de vías, P = 0.001, R² = 0.08), (3) la abundancia de pulgones se asoció negativamente con la proporción de semillas viables del cardo (Análisis de vías, P < 0.001, R² = 0.35), y (4) la abundancia de *D. tener* se asoció negativa e indirectamente con la proporción de semillas viables del cardo (Análisis de vías, P = 0.02; Fig. 3.7b). La vía de la "Facilitación biótica indirecta" no fue apoyada; así, no hubo asociación entre la abundancia de *D. tener* y el curculiónido *R. conicus* (Análisis de vías, P = 0.20) y no hubo asociación indirecta entre las hormigas y la proporción de semillas viables del cardo (Análisis de vías, P = 0.23; Fig. 3.7b). Los análisis de vías para las hormigas *C. distinguendus* o *D. richteri* no apoyaron la vía de la "Resistencia biótica indirecta" ni la vía de la "Facilitación biótica indirecta" (Apéndice, Fig. A3.3). Para más resultados del Análisis de vías, ver Tabla A3.1 en Apéndice.

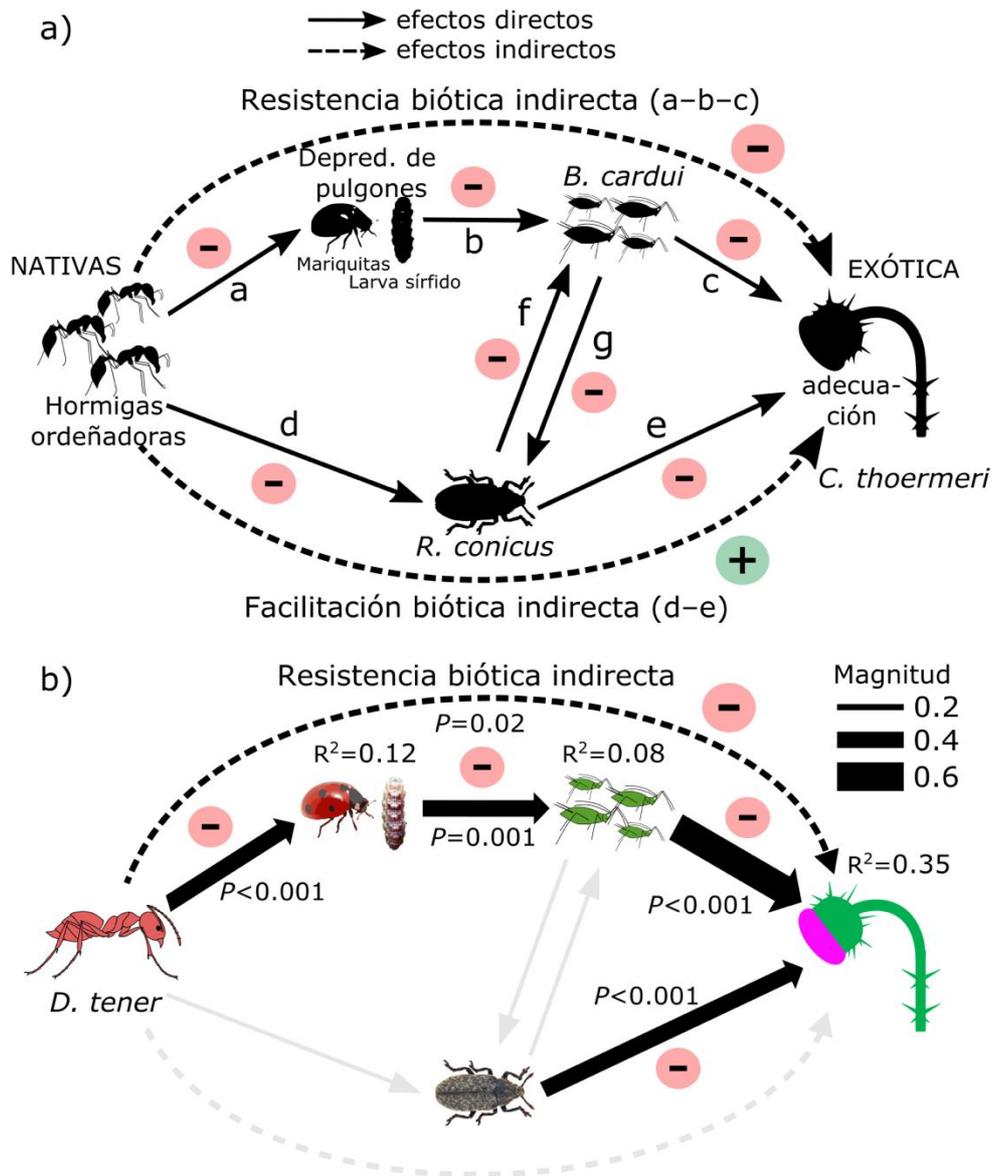


FIG. 3.7 Vías directas e indirectas entre las hormigas ordeñadoras de pulgones y la adecuación del cardo (*Carduus thoermeri*). a) Modelo hipotético: a = relación entre las hormigas ordeñadoras de pulgones y los depredadores de pulgones (mariquitas y larvas de sírfido), b = relación entre los depredadores de pulgones y la población del pulgón *Brachycaudus cardui*, c = relación entre el pulgón *B. cardui* y la adecuación de *C. thoermeri*, d = relación entre las hormigas ordeñadoras y el curculiónido *Rhinocyllus conicus*, e = relación entre el curculiónido *R. conicus* y la adecuación de *C. thoermeri*, f y g = relación entre el pulgón *B. cardui* y el curculiónido *R. conicus*. La rama superior (a-b-c) es la vía indirecta que incluye la relación entre las hormigas y cardos por medio del pulgón *B. cardui* (“Resistencia biótica indirecta”). La rama inferior (d-e) corresponde a la vía indirecta que incluye la relación entre las hormigas y cardos por medio del curculiónido *R. conicus* (“Facilitación biótica indirecta”). b) Resultado del análisis de vías para la especie de hormiga ordeñadora más agresiva y abundante del ensamble (*Dorymyrmex tener*). Los depredadores de los pulgones corresponden a datos agrupados de especies de mariquitas y larvas de sírfidos. Las flechas negras representan vías significativas ($P < 0.05$) mientras que las flechas grises son vías no significativas. La magnitud corresponde a los coeficientes estandarizados (siguiendo el análisis de vías basados en ecuaciones estructurales)

DISCUSIÓN

Los efectos bióticos indirectos son importantes en la estructuración y dinámica de las comunidades ecológicas (Strauss 1991; Strauss e Irwin 2004; Ohgushi 2005, 2008; Schmitz 2008). Así, los efectos bióticos indirectos podrían cumplir un papel relevante en las invasiones biológicas (White *et al.* 2006; Ricciardi *et al.* 2013). En este capítulo evidencié que las hormigas ordeñadoras pueden reducir indirectamente la reproducción de un cardo exótico al proteger a los pulgones de sus depredadores naturales y, por lo tanto, aumentar la infestación –y el daño– que los pulgones provocan en la adecuación de las plantas. La proporción de semillas viables de los cardos con la hormiga *D. tener* se redujo en un 40% respecto a las plantas sin hormigas. La hormiga *D. tener* fue la especie más agresiva frente a los depredadores de pulgones y curculiónidos y además fue la más abundante y frecuente sobre las plantas. La proporción de semillas viables de los cardos con las hormigas *C. distinguendus* o *D. richteri* no cambió respecto a las plantas sin hormigas. Las hormigas *C. distinguendus* y *D. richteri* fueron menos agresivas, abundantes, y frecuentes que *D. tener*. Al excluir a *D. tener* de los cardos, la proporción de semillas viables se recuperó a los valores de los cardos sin hormigas. El análisis de vías apoyó la hipótesis de la “Resistencia biótica indirecta”, pero solo para las plantas con la hormiga *D. tener*. Esto último sugiere que las hormigas ordeñadoras agresivas y abundantes, pueden potenciar la resistencia biótica al aumentar la infestación de pulgones y disminuir indirectamente la adecuación de las plantas. Colectivamente, mis resultados destacan la importancia de los efectos bióticos indirectos en las invasiones biológicas.

Esta bien documentado que las hormigas nativas pueden afectar directamente la adecuación de las especies exóticas (Jensen & Six 2006; Farji-Brener & Ghermandi 2008; Alba-Lynn & Henk 2010; Masciocchi *et al.* 2010). Pero las hormigas también

pueden afectar a las especies por vías indirectas (e.g., ‘colapso invasivo’: O'Dowd *et al.* 2003; Green *et al.* 2011). En este capítulo evidencié que una especie de hormiga ordeñadora (*D. tener*) afecta indirectamente la adecuación de una planta exótica al incrementar la abundancia de pulgones y, por tanto, aumentar el daño causado por estos herbívoros. Esta vía indirecta, que denominé "Resistencia biótica indirecta", fue apoyada solo por la especie de hormiga ordeñadora más agresiva y abundante del ensamble, *D. tener*. En el CAPÍTULO 2 evidencié que esta especie de hormiga es particularmente agresiva contra mariquitas y larvas de sírfido, y la expulsión de estos enemigos de pulgones de los cardos incrementa la abundancia de pulgones. En consecuencia, la protección proveída por *D. tener* incrementa la tasa de crecimiento poblacional de los pulgones (ver CAPÍTULO 2), lo que aumenta el daño de los pulgones hacia la planta hospedera disminuyendo su adecuación. En un estudio anterior en el mismo sistema (Chalcoff *et al.* 2019), se sugirió que la hormiga *D. tener* no afecta indirectamente la adecuación del cardo y que, en cambio, es el efecto directo de los pulgones lo que explica el descenso en la adecuación del cardo. Aquí, mediante el empleo de análisis de vías y la incorporación de otras variables no medidas en el estudio de Chalcoff *et al.* (2019) (e.g., cantidad de hormigas sobre las plantas y cantidad de curculiónidos en las inflorescencias) pude evidenciar que *D. tener* afecta indirectamente la adecuación de las plantas al favorecer a las poblaciones de pulgones. Esto pone en evidencia que para predecir la adecuación e impacto de las especies invasoras es necesario considerar la mayor cantidad de variables del sistema, por lo que no es aconsejable considerar redes de interacciones sencillas en sistemas que por lo general son multi-específicos.

Aparte de la presencia de hormigas ordeñadoras, otros factores también pueden ser claves para explicar el descenso en la reproducción del cardo. La abundancia de *D.*

tener se asoció negativamente a la proporción de semillas viables, pero el nivel de correlación no fue alto (correlación de Pearson = 0.47; ver dispersión de puntos para D. tener en Fig. 3.4b). El análisis de vías indicó que, para la reproducción del cardo, la bondad de ajuste fue $R^2 = 0.35$ (35%) (Fig. 3.7b), indicando que hay un 65% de la variabilidad de la reproducción del cardo que no es explicada por los efectos de las hormigas, pulgones, y curculiónidos. Factores ambientales como los nutrientes en el suelo, temperatura, precipitación, radiación solar, y el viento, pueden afectar la reproducción de las plantas (e.g., Nobel 1981; Farji-Brener & Ghermandi 2008; Moles *et al.* 2014). Para controlar las variables ambientales mencionadas, procuré seleccionar plantas creciendo cerca entre sí, pero incluso a una escala espacial pequeña puede haber variabilidad de estos factores ambientales. Por ejemplo, puede haber diferencia en las variables ambientales entre los individuos del borde contra las del interior del parche de cardos. Tanto la competencia intra e interespecífica puede afectar la reproducción de las plantas (Weiner 1998). Como seleccioné plantas que crecían cerca una de otra, tal vez fomenté una mayor competencia intraespecífica entre los cardos. Los cardos además se encontraban intercalados entre otras especies vegetales de pequeño tamaño, como *Quinchamalium chilense*, *Anemone multifida*, *Acaena caespitosa*, *Senecio filaginoides*, y *Phacelia secunda*. La mayor competencia entre cardos –o de los cardos con otras plantas de la estepa– podría explicar parte de la variabilidad no explicada que encontré al relacionar la reproducción de las plantas a la presencia y abundancia de hormigas ordeñadoras.

Las hormigas ordeñadoras también pueden afectar indirectamente las plantas hospederas al reducir la abundancia de herbívoros no-pulgón y, por tanto, disminuir los daños causados por estos herbívoros (Rosumek *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2012). Si esta vía ocurre en plantas exóticas infestadas de pulgones, las hormigas ordeñadoras podrían

potenciar la invasión de dichas plantas. Denominé a dicha vía "Facilitación biótica indirecta" y no fue apoyada en mi sistema de estudio. No encontré asociación entre la abundancia de las hormigas y la abundancia del curculiónido *R. conicus* en las inflorescencias de cardo. Además, la especie de hormiga más agresiva *D. tener* no expulsó a *R. conicus* de las plantas en los experimentos en los que adicione curculiónidos. El hecho de que *D. tener* no lograra expulsar a los curculiónidos de las plantas podría explicarse por diferencias de tamaño entre estos dos insectos (*R. conicus* es ~3 veces más grande que la hormiga *D. tener*) y/o por la fuerte esclerotización del cuerpo de los curculiónidos, que los podría hacer resistentes a las mordeduras de las hormigas (Byk & Del-Claro 2010; Alves-Silva *et al.* 2015).

La "Resistencia biótica indirecta" que proveen las hormigas ordeñadoras podría ser importante a la hora de tomar decisiones de manejo sobre las plantas invasoras. El manejo de las especies invasoras se basa a menudo en la introducción de nuevos elementos en la comunidad invadida, como los agentes de control biológico. Estos agentes de biocontrol son efectivos para el manejo de muchas especies exóticas, pero también pueden tener efectos no deseados sobre otras especies e impactar negativamente sobre los sistemas naturales nativos (e.g., Louda *et al.* 2003; Rand & Louda 2004). Una estrategia de gestión más sustentable es manipular los elementos y/o interacciones ya presentes en la comunidad invadida. Los resultados de mi trabajo sugieren que el fomento de la interacción entre hormigas y pulgones podría ser usado para controlar plantas exóticas problemáticas, como el cardo *C. thoermeri*. En la Patagonia, esta estrategia parece muy prometedora ya que (1) la hormiga agresiva *D. tener* es la especie más abundante en el ensamble de hormigas nativo (Farji-Brener *et al.* 2002), (2) *D. tener* es particularmente propensa a visitar cardos infestados de pulgones (Lescano & Farji-Brener 2011; ver Tabla 2.1 en CAPÍTULO 2), (3) *D. tener* protege a los

pulgonos del cardo sin afectar al agente de biocontrol del cardo *R. conicus*, y (4) *D. tener* afecta negativamente la reproducción de los cardos. Aún así, resta por conocerse si el efecto de las hormigas ordeñadoras sobre la reproducción de los cardos se traduce en un impacto real a nivel de la población de esta planta exótica (tema que trato en detalle en el CAPÍTULO 4). Entonces, para tomar decisiones de manejo que sean eficaces en el control de especies invasoras y sustentables con el medio ambiente, es importante investigar las interacciones entre especies exóticas y nativas en la comunidad invadida.

En este capítulo, evidencié que las hormigas ordeñadoras pueden afectar indirectamente la reproducción de las plantas exóticas a través del cuidado de los pulgonos. Pero es importante destacar que este efecto no fue consistente para todo el gremio de hormigas ordeñadoras y solo las hormigas agresivas y abundantes proporcionaron “Resistencia biótica indirecta”. Mis resultados ponen en evidencia que los efectos indirectos pueden potenciar mecanismos clásicos usados para explicar la invasión de especies, como es el caso de la Resistencia biótica (Elton 1958). Entender estos efectos indirectos que ejerce la biota local sobre las nuevas especies que arriban a la comunidad mejorará nuestra capacidad para predecir los posibles impactos de las especies invasoras y nos ayudará a diseñar estrategias de manejo que nos permitan mitigar el avance de las especies exóticas.

ARTÍCULO DERIVADO DEL CAPÍTULO 3

Devegili AM, Lescano MN, Gianoli E, Farji-Brener AG (2021) Evidence of indirect biotic resistance: native ants decrease invasive plant fitness by enhancing aphid infestation. *Oecologia* 1-12 doi:10.1007/s00442-021-04874-2

REFERENCIAS

- Alba-Lynn C, Henk S (2010) Potential for ants and vertebrate predators to shape seed-dispersal dynamics of the invasive thistles *Cirsium arvense* and *Carduus nutans* in their introduced range (North America). *Plant Ecol* 210:291–301
doi:10.1007/s11258-010-9757-2
- Alves-Silva E, Bächtold A, Barônio GJ, Torezan-Silingardi HM, Del-Claro K (2015) Ant–herbivore interactions in an extrafloral nectaried plant: are ants good plant guards against curculionid beetles? *J Nat Hist* 49:841–51
doi:10.1080/00222933.2014.954020
- Banks CJF, Nixon HL (1958) Effects of the ant, *Lasius Niger* L., on the feeding and excretion of the Bean Aphid, *Aphis Fabae* Scop. *J Exp Biol* 35:703–11
- Boldt PE, Kok LT (1982) Bibliography of *Rhinocyllus conicus* froel. (coleoptera: curculionidae), an introduced weevil for the biological control of *Carduus* and *Silybum* thistles. *Bull Ecol Soc Am* 28:355–60 doi:10.1093/besa/28.4.355
- Brody AK, Irwin RE, McCutcheon ML, Parsons EC (2008) Interactions between nectar robbers and seed predators mediated by a shared host plant, *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* 155:75–84 doi:10.1007/s00442-007-0879-8
- Byk J, Del-Claro K (2010) Nectar-and pollen-gathering *Cephalotes* ants provide no protection against herbivory: a new manipulative experiment to test ant protective capabilities. *Acta Ethol* 13:33–38 doi:10.1007/s10211-010-0071-8
- Callaway RM, Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* 2:436–43
doi:10.1890/1540-9295(2004)002[0436:nwisat]2.0.co;2
- Canedo-Júnior EO, Santiago GS, Zurlo LF, Ribas CR, Carvalho RP, Alves GP, ... Souza B (2017) Isolated and community contexts produce distinct responses by

- host plants to the presence of ant–aphid interaction: plant productivity and seed viability. PLoS ONE 12:e0170915 doi:10.1371/journal.pone.0170915
- Chalcoff VR, Lescano MN, Devegili AM (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. Plant Ecol 220:125–34 doi:10.1007/s11258-019-00907-2.
- Crutsinger GM, Sanders NJ (2005) Aphid-tending ants affect secondary users in leaf shelters and rates of herbivory on *Salix hookeriana* in a coastal dune habitat. Am Midl Nat 154:296–304 doi:10.1674/0003-0031(2005)154[0296:aaasui]2.0.co;2
- DeRivera CE, Ruiz GM, Hines AH, Jivoff P (2005) Biotic resistance to invasion: native predator limits abundance and distribution of an introduced crab. Ecology 86:3364–76 doi:10.1890/05-0479
- Desrochers AM, Bain JF, Warwick SI (1988) THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS.: 89. *Carduus Nutans* L. and *Carduus Acanthoides* L. Can J Plant Sci 68:1053–68 doi:10.4141/cjps88-126
- Devegili AM, Chalcoff VR (2020) Nectar shortage caused by aphids may reduce seed output via pollination interference. Oecologia 194:321–332 doi:10.1007/s00442-020-04712-x
- Dixon AFG (1998) Aphid Ecology: An Optimisation Approach. Springer, Netherlands
- Elton CS (1958) The Ecology of Invasions by Plants and Animals. Springer, Switzerland
- Enrique de Briano AE, Acciaresi HA, Briano JA (2013) Establishment, dispersal, and prevalence of *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae), a biological control agent of thistles, *Carduus* species (Asteraceae), in Argentina, with experimental information on its damage. Biol Control 67:186–93 doi:10.1016/j.biocontrol.2013.07.009

- Eskelinen A, Harrison S (2014) Exotic plant invasions under enhanced rainfall are constrained by soil nutrients and competition. *Ecology* 95:682–92 doi:10.1890/13-0288.1
- Farji-Brener AG, Ghermandi L (2008) Leaf-cutting ant nests near roads increase fitness of exotic plant species in natural protected areas. *P Roy Soc B-Biol Sci* 275:1431–40 doi:10.1098/rspb.2008.0154
- Fox J, Weisberg S, Adler D, Bates D, Baud-Bovy G, Ellison S, ..., Heiberger R (2012) Package ‘car’. R package version 3.0-3. Available at <https://cran.r-project.org/web/packages/car/index.html>. Accessed Jan 9, 2019
- Grace JB (2006) *Structural Equation Modeling and Natural Systems*. Cambridge University Press, United Kingdom
- Green PT, O’Dowd DJ, Abbott KL, Jeffery M, Retallick K, Mac Nally R (2011) Invasional meltdown: Invader–invader mutualism facilitates a secondary invasion. *Ecology* 92:1758–68 doi:10.1890/11-0050.1
- Jensen JM, Six DL (2006) Myrmecochory of the exotic plant, *Centaurea maculosa*: A potential mechanism enhancing invasiveness. *Environ Entomol* 35:326–31 doi:10.1603/0046-225x-35.2.326
- Larson KC, Whitham TG (1997) Competition between gall aphids and natural plant sinks: plant architecture affects resistance to galling. *Oecologia* 109:575–82 doi:10.1007/s004420050119
- Lescano MN, Farji-Brener AG (2011) Exotic thistles increase native ant abundance through the maintenance of enhanced aphid populations. *Ecol Res* 26:827–34 doi:10.1007/s11284-011-0842-3.
- Levine JM, Adler PB, Yelenik SG (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecol Lett* 7:975–89 doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x

- Louda SM, Arnett AE, Rand TA, Russell FL (2003) Invasiveness of some biological control insects and adequacy of their ecological risk assessment and regulation. *Conserv Biol* 17:73–82 doi:10.1046/j.1523-1739.2003.02020.x
- Maron JL, Connors PG (1996) A native nitrogen-fixing shrub facilitates weed invasion. *Oecologia* 105:302–12 doi:10.1007/bf00328732
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361–373 doi:10.1034/j.1600-0706.2001.950301.x
- Masciocchi M, Farji-Brener AG, Sackmann P (2010) Competition for food between the exotic wasp *Vespula germanica* and the native ant assemblage of NW Patagonia: evidence of biotic resistance? *Biol Invasions* 12:625–631 doi:10.1007/s10530-009-9469-5
- Mazerolle MJ (2013) Package ‘AICcmodavg’. R package version 2.2-2. Available at <https://cran.r-project.org/web/packages/AICcmodavg/index.html>. Accessed Jan 20, 2019.
- Mitchell CE, Agrawal AA, Bever JD, Gilbert GS, Hufbauer RA, Klironomos JN, Maron JL, ... Power AG (2006) Biotic interactions and plant invasions. *Ecol Lett* 9:726–40 doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00908.x
- Moles AT, Perkins SE, Laffan SW, Flores-Moreno H, Awasthy M, Tindall ML, ..., Bonser SP (2014) Which is a better predictor of plant traits: temperature or precipitation? *J Veg Sci* 25:1167–1180 doi: 10.1111/jvs.12190
- Mooney KA, Mandal K (2010) Competition hierarchies among ants and predation by birds jointly determine the strength of multi-species ant–aphid mutualisms. *Oikos* 119:874–82 doi:10.1111/j.1600-0706.2009.18163.x
- Ness JH, Morris WF, Bronstein JL (2006) Integrating quality and quantity of

- mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology* 87:912–21 doi:10.1890/0012-9658(2006)87[912:iqaqom]2.0.co;2
- Nielsen C, Agrawal AA, Hajek AE (2010) Ants defend aphids against lethal disease. *Biol Lett* 6:205–8 doi:10.1098/rsbl.2009.0743
- Nobel PS (1981) Wind as an ecological factor. En: Press MC, Scholes JD, Barker MG (eds) *Physiological Plant Ecology*. Springer, Berlin, Alemania, pp 475–500
- Núñez MA, Horton TR, Simberloff D (2009) Lack of belowground mutualisms hinders Pinaceae invasions. *Ecology* 90:2352–59 doi:10.1890/08-2139.1
- O’Dowd DJ, Green PT, Lake PS (2003) Invasional ‘Meltdown’ on an oceanic island. *Ecol Lett* 6:812–17 doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00512.x
- Ohgushi T (2005) Indirect Interaction Webs: Herbivore-Induced Effects Through Trait Change in Plants. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:81–105
doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.091704.175523
- Ohgushi T (2008) Herbivore-induced indirect interaction webs on terrestrial plants: the importance of non-trophic, indirect, and facilitative interactions. *Entomol Exp Appl* 128:217–29 doi:10.1111/j.1570-7458.2008.00705.x
- Ortega-Ramos PA, Mezquida ET, Acebes P (2020) Ants indirectly reduce the reproductive performance of a leafless shrub by benefiting aphids through predator deterrence. *Plant Ecol* 221:91–101 doi:10.1007/s11258-019-00995-0
- Parker JD, Hay ME (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecol Lett* 8:959–67 doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00799.x
- Paynter Q, Forgie SA, Winks CJ, Peterson PG, Ward DF, Nicholson L, Van Zoelen R (2012) Biotic resistance: Facilitation between invasive homoptera and invasive ants limits the establishment of an introduced weed biocontrol agent in New

- Zealand. *Biol Control* 63:188–94 doi:10.1016/j.biocontrol.2012.07.010
- Popay AI, Medd RW (1990) The biology of Australian weeds. 21. *Carduus nutans* L. ssp. *nutans*. *Plant Protection Quarterly* 5:3–13
- Prider JN, Facelli JM, Watling JR (2011) Multispecies interactions among a plant parasite, a pollinator and a seed predator affect the reproductive output of an invasive plant, *Cytisus scoparius*. *Austral Ecol* 36:167–75 doi:10.1111/j.1442-9993.2010.02132.x
- Prior KM, Robinson JM, Meadley Dunphy SA, Frederickson ME (2015) Mutualism between co-introduced species facilitates invasion and alters plant community structure. *P Roy Soc B-Biol Sci* 282:20142846 doi:10.1098/rspb.2014.2846
- Puth M, Neuhäuser M, Ruxton GD (2014) Effective use of Pearson’s product–moment correlation coefficient. *Anim Behav* 93:183–89 doi:10.1016/j.anbehav.2014.05.003
- R Core Team (2015) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rand TA, Louda SM (2004) Exotic weed invasion increases the susceptibility of native plants to attack by a biocontrol herbivore. *Ecology* 85:1548–1554 doi: 10.1890/03-3067
- Ricciardi A, Hoopes MF, Marchetti MP, Lockwood JL (2013) Progress toward understanding the ecological impacts of nonnative species. *Ecol Monogr* 83:263–82 doi:10.1890/13-0183.1
- Richardson DM, Allsopp N, D’Antonio CM, Milton SJ, Rejmanek M (2000) Plant invasions—the role of mutualisms. *Biol Rev* 75:65–93 doi:10.1111/j.1469-185x.1999.tb00041.x
- Rossee Y (2012) Package ‘Lavaan’. R package version 0.6-3. Available at

- <https://cran.r-project.org/web/packages/lavaan/index.html>. Accessed Jan 21, 2019.
- Rosumek FB, Silveira FAO, Neves FS, Barbosa NPU, Diniz L, Oki Y, Pezzini F, Fernandes GW, Cornelissen T (2009) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537–49 doi:10.1007/s00442-009-1309-x
- Schmitz OJ (2008) Effects of Predator Hunting Mode on Grassland Ecosystem Function. *Science* 319:952–54 doi:10.1126/science.1152355
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nat Methods* 9:671–75 DOI:10.1038/nmeth.2089
- Simberloff D, Von Holle B (1999) Positive interactions of nonindigenous species: invasional meltdown? *Biol Invasions* 1:21–32 doi:10.1023/A:1010086329619
- Sipura M (2002) Contrasting effects of ants on the herbivory and growth of two willow species. *Ecology* 83:2680–90 doi:10.1890/0012-9658(2002)083[2680:ceoat]2.0.co;2
- Stadler B, Dixon AFG (2008) *Mutualism: Ants and Their Insect Partners*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Strauss SY (1991) Indirect effects in community ecology: Their definition, study and importance. *Trends Ecol Evol* 6:206–10 doi:10.1016/0169-5347(91)90023-q
- Strauss SY, Irwin RE (2004) Ecological and Evolutionary Consequences of Multispecies Plant-Animal Interactions. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:435–66 doi:10.1146/annurev.ecolsys.35.112202.130215
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *P Roy Soc B-Biol Sci* 274:151–64 doi:10.1098/rspb.2006.3701
- Wardle DA, Ahmed M, Nicholson KS (1991) Allelopathic influence of nodding thistle

- (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants.
New Zeal J Agr Res 34:185–91 doi:10.1080/00288233.1991.10423358
- Weiner J (1988) The influence of competition on plant reproduction. En: Doust JL, Doust LL (eds) *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. Oxford University Press on Demand, Gran Bretaña, pp 228–245
- White EV, Wilson JC, Clarke AR (2006) Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. *Divers Distrib* 12:443–55 doi:10.1111/j.1366-9516.2006.00265.x
- Yoo HJ, Kizner MC, Holway DA (2013) Ecological effects of multi-species, ant–hemipteran mutualisms in citrus. *Ecol Entomol* 38:505–14 doi:10.1111/een.12042
- Zhang S, Zhang Y, Ma K (2012) The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: a meta-analysis. *Basic Appl Ecol* 13:116–124
doi:10.1016/j.baae.2012.02.002
- Zwölfer H, Harris P (1984) Biology and host specificity of *Rhinocyllus conicus* (Froel.)(Col., Curculionidae), a successful agent for biocontrol of the thistle, *Carduus nutans* L. 1. *Z Angew Entomol* 97:36–62 doi:10.1111/j.1439-0418.1984.tb03714.x

APÉNDICE

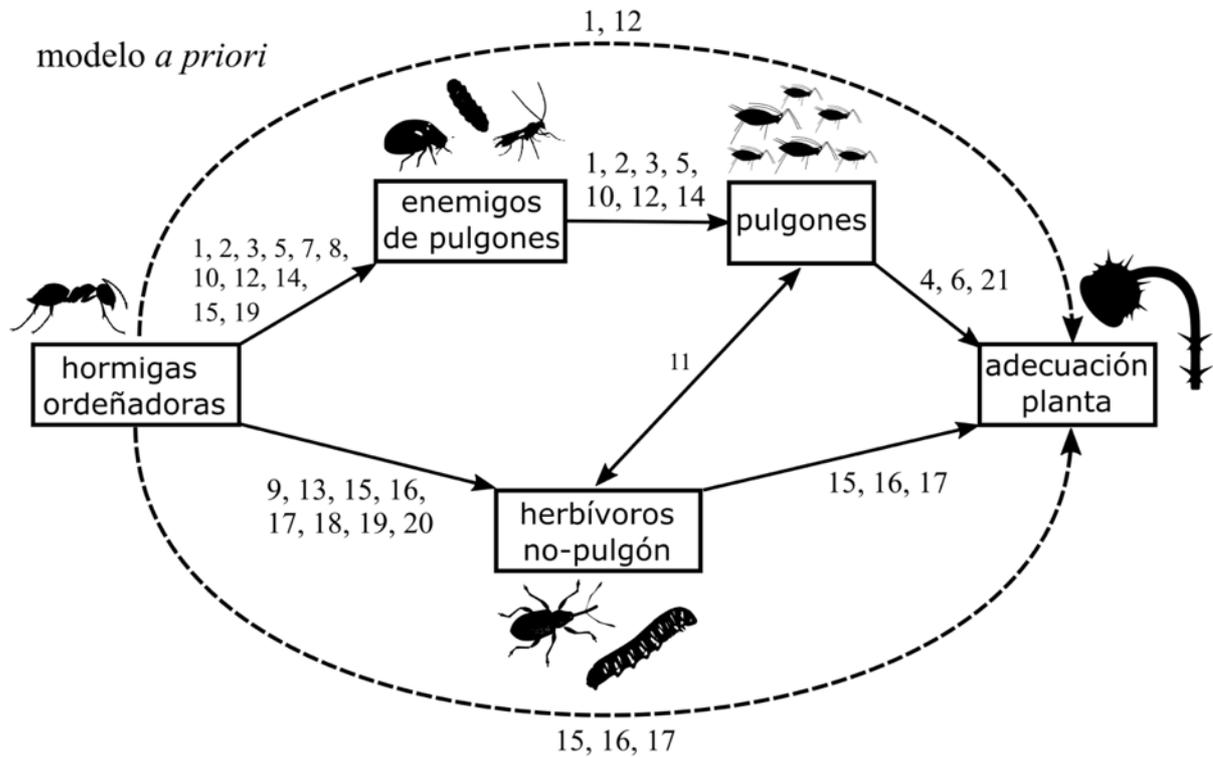


FIG. A3.1 Modelo conceptual *a priori* que describe las vías por las que las hormigas ordeñadoras podrían influir indirectamente en la aptitud de las plantas a través de efectos de las hormigas sobre los pulgones y/o sobre los herbívoros no-pulgón. Las flechas indican una hipotética influencia de una variable sobre otra. Flechas de línea continua = efectos directos; flechas de línea discontinua = efectos indirectos. La rama superior representa el efecto de las hormigas sobre las plantas a través de los depredadores de pulgones y los pulgones. La rama inferior representa el efecto de las hormigas sobre las plantas a través de los herbívoros no-pulgón. Los números sobre o debajo de las flechas de los efectos directos o indirectos indican los trabajos que apoyan dicho efecto

1. Canedo-Júnior EO, Santiago GS, Zurlo LF, Ribas CR, Carvalho RP, Alves GP, ..., Souza B (2017) Isolated and community contexts produce distinct responses by host plants to the presence of ant-aphid interaction: plant productivity and seed viability. PLoS ONE 12:e0170915 doi:10.1371/journal.pone.0170915
2. Canedo-Júnior EO, Santiago GS, Ribas CR, Zurlo LF, Cuissi RG, Souza B, ..., Silva E (2018) The effect size of aphid-tending ants in an agricultural tri-trophic system. J Appl Entomol 143:349–358 doi:10.1111/jen.12475
3. Canedo-Júnior EO, Monteiro ÂB, de Queiroz ACM, Silva GS (2019) Aphid-Tending Ants and Their Effects on Natural Enemies Used in the Biological Control. In: Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems (ed. by Souza B, Vázquez L, Marucci R), pp. 523–533. Springer, Switzerland. doi:10.1007/978-3-030-24733-1_42
4. Chalcoff VR, Lescano MN, Devegili AM (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. Plant Ecol 220:125–34 doi:10.1007/s11258-019-00907-2

5. Devegili AM, Lescano MN, Gianoli E, Farji-Brener AG (2020) Defence variation within a guild of aphid-tending ants explains aphid population growth. *Ecol Entomol* 45:1180–1189 doi:10.1111/een.12904
6. Devegili AM, Chalcoff VR (2020) Nectar shortage caused by aphids may reduce seed output via pollination interference. *Oecologia* 194:321–332 doi:10.1007/s00442-020-04712-x
7. Detrain C, Fichaux M, Verheggen F (2017) Tuned protection of aphids by ants against a predatory hoverfly. *Ecol Entomol* 42:235–244 doi:10.1111/een.12378
8. Finlayson CJ, Alyokhin AV, Porter EW (2009) Interactions of native and non-native lady beetle species (Coleoptera: Coccinellidae) with aphid-tending ants in laboratory arenas. *Environ Entomol* 38:846–855 doi:10.1603/022.038.0338
9. Floate KD, Whitham TG (1994) Aphid-ant interaction reduces chrysomelid herbivory in a cottonwood hybrid zone. *Oecologia* 97:215–221 doi:10.1007/BF00323152
10. Herbert JJ, Horn DJ (2008) Effect of ant attendance by *Monomorium minimum* (Buckley)(Hymenoptera: Formicidae) on predation and parasitism of the soybean aphid *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae). *Environ Entomol* 37:1258–1263 doi:10.1603/0046-225X(2008)37[1258:EOAABM]2.0.CO;2
11. Kroes A, van Loon JJ, Dicke M (2015) Density-dependent interference of aphids with caterpillar-induced defenses in *Arabidopsis*: involvement of phytohormones and transcription factors. *Plant Cell Physiol* 56:98–106 doi:10.1093/pcp/pcu150
12. Ortega-Ramos PA, Mezquida ET, Acebes P (2020) Ants indirectly reduce the reproductive performance of a leafless shrub by benefiting aphids through predator deterrence. *Plant Ecol* 221:91–101 doi:10.1007/s11258-019-00995-0
13. Paynter Q, Forgie SA, Winks CJ, Peterson PG, Ward DF, Nicholson L, Van Zoelen R (2012) Biotic resistance: Facilitation between invasive homoptera and invasive ants limits the establishment of an introduced weed biocontrol agent in New Zealand. *Biol Control* 63:188–94 doi:10.1016/j.biocontrol.2012.07.010
14. Powell, B. E., & Silverman, J. (2010). Impact of *Linepithema humile* and *Tapinoma sessile* (Hymenoptera: Formicidae) on three natural enemies of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). *Biol Control* 54:285–291 doi:10.1016/j.biocontrol.2010.05.013
15. Rosumek FB, Silveira FA, Neves FDS, Barbosa NPDU, Diniz L, Oki Y, ..., Cornelissen T (2009) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160:537–549 doi:10.1007/s00442-009-1309-x
16. Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *P Roy Soc B-Biol Sci* 274:151–64 doi:10.1098/rspb.2006.3701
17. Styrsky JD, Eubanks MD (2010) A facultative mutualism between aphids and an invasive ant increases plant reproduction. *Ecol Entomol* 35:190–199 doi:10.1111/j.1365-2311.2009.01172.x
18. Suzuki N, Ogura K, Katayama N (2004) Efficiency of herbivore exclusion by ants attracted to aphids on the vetch *Vicia angustifolia* L. (Leguminosae). *Ecol Res* 19:275–282 doi:10.1111/j.1440-1703.2004.00636.x
19. Zhang S, Zhang Y, Ma K (2012) The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: A meta-analysis. *Basic Appl Ecol* 13:116–124 doi:10.1016/j.baae.2012.02.002

20. Zhang S, Zhang YX, Ma KM (2020) Fine-scale variation of a keystone interaction: aphid-tending ants show stronger anti-herbivory effects on small leaves. *Arthropod Plant Interact* 14:357–361 doi:10.1007/s11829-020-09754-9
21. Zvereva EL, Lanta V, Kozlov MV (2010) Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies. *Oecologia* 163:949–960 doi:10.1007/s00442-010-1633-1

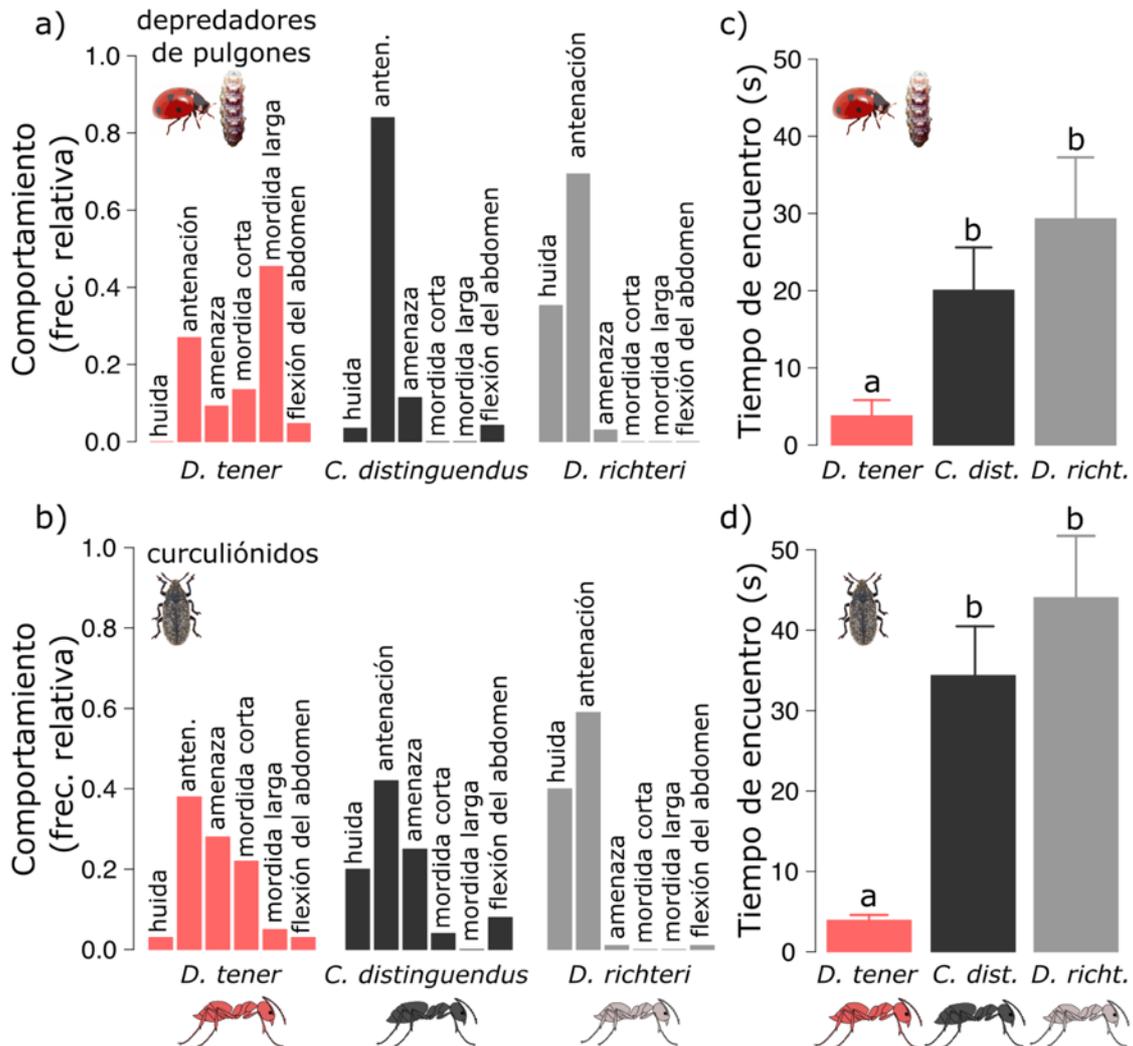


FIG. A3.2 Confrontación de a pares entre hormigas ordeñadoras de pulgones contra depredadores de pulgones o curculiónidos. Frecuencia relativa de los comportamientos de las hormigas contra a) depredadores de pulgones (datos agrupados: 4 especies de mariquitas + 2 especies de sírfidos) y contra b) curculiónidos de cardos (*Rhinocyllus conicus*); en los ejes x de a) y b) los comportamientos de las hormigas aumentan su agresividad de izquierda a derecha. Tiempo de encuentro de las especies de hormigas ordeñadoras con c) los depredadores de pulgones y d) los curculiónidos. En c) y d) las barras y bigotes representan la media más un error estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas. *D. tener* = *Dorymyrmex tener* (rojo); *C. dist.* = *Camponotus distinguendus* (negro); *D. richt.* = *D. richteri* (gris)

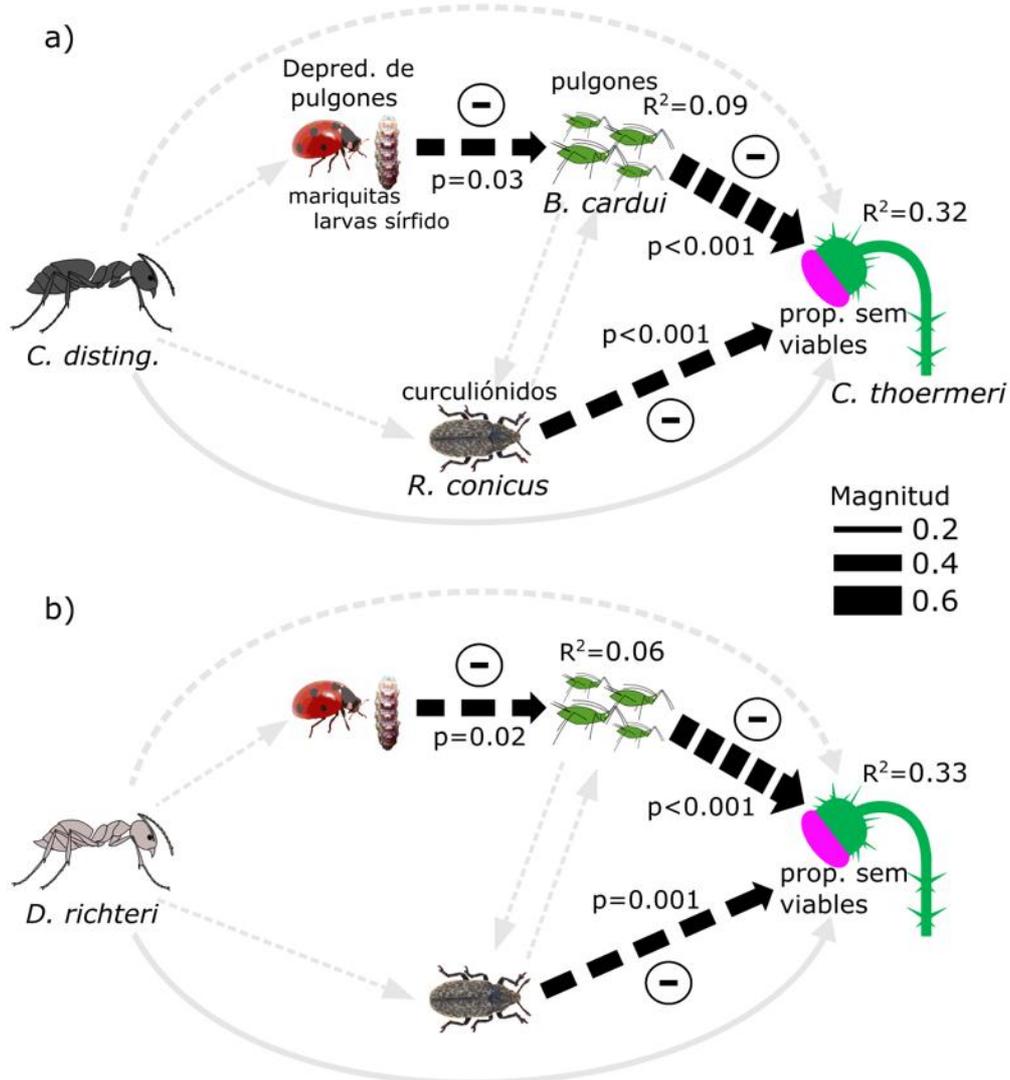


FIG. A3.3 Vías directas e indirectas entre las especies de hormigas ordeñadoras menos agresivas y la reproducción del cardo. El análisis de vías muestra los resultados para la hormiga ordeñadora a) *Camponotus distinguendus* o b) *Dorymyrmex richteri*. *Camponotus distinguendus* y *D. richteri* son especies con baja y nula agresividad hacia los depredadores de los pulgones y los curculiónidos de cardos. Los depredadores de pulgones corresponden a los datos agrupados de cuatro especies de mariquitas (individuos adultos) y las larvas de dos especies de sírfidos. Las flechas negras son vías significativas ($P < 0,05$, siguiendo el Análisis de vías) y las flechas grises no son significativas. La magnitud representa los coeficientes estandarizados del Análisis de vías. Los Análisis de vías se basan en modelos de ecuaciones estructurales (SEM)

TABLA A3.1 Resultados detallados de los análisis de vías usados para examinar las relaciones entre las abundancias de hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*), depredadores de pulgones (cuatro especies de mariquitas y dos especies de sírfidos), pulgones (*Brachycaudus cardui*), y curculiónidos (*Rhinocyllus conicus*), y la proporción de semillas viables del cardo (*Carduus thoermeri*). Los valores P significativos se muestran en negrita. Las letras minúsculas entre paréntesis corresponden a las vías de la Fig. 3.7a. Coef. = coeficientes estandarizados del Análisis de vías

	Coef.	P	R ²
<i>Dorymyrmex tener</i>			
Vías directas			
No. hormigas → No. pred. pulgones (a)	-0.3	< 0.001	0.12
No. pred. pulgones + No. curculiónidos → No. pulgones (b + g)	-0.3	0.001	
	0.02	0.84	0.08
No. hormigas + No. pulgones → No. curculiónidos (d + f)	0.1	0.20	
	0.03	0.82	0.02
No. pulgones + No. curculiónidos → Prop. sem. viables (c + e)	-0.5	< 0.001	
	-0.3	< 0.001	0.35
Vías indirectas			
No. hormigas (→ No. pred. pulgones → No. pulgones) → Prop. sem. viables (a, b, c)	-0.05	0.02	
No. hormigas (→ No. curculiónidos) → Prop. sem. viables (d, e)	-0.03	0.23	
<i>Camponotus distinguendus</i>			
Vías directas			
No. hormigas → No. pred. pulgones (a)	-0.2	0.07	0.04
No. pred. pulgones + No. curculiónidos → No. pulgones (b + g)	-0.3	0.003	
	0.09	0.36	0.09
No. hormigas + No. pulgones → No. curculiónidos (d + f)	0.2	0.07	
	0.07	0.34	0.04
No. pulgones + No. curculiónidos → Prop. sem. viables (c + e)	-0.4	< 0.001	
	-0.4	< 0.001	0.32
Vías indirectas			
No. hormigas (→ No. pred. pulgones → No. pulgones) → Prop. sem. viables (a, b, c)	-0.02	0.14	
No. hormigas (→ No. curculiónidos) → Prop. sem. viables (d, e)	0.07	0.12	
<i>D. richteri</i>			
Vías directas			
No. hormigas → No. pred. pulgones (a)	-0.2	0.07	0.05
No. pred. pulgones + No. curculiónidos → No. pulgones (b + g)	-0.3	0.02	
	0.2	0.15	0.06
No. hormigas + No. pulgones → No. curculiónidos (d + f)	-0.2	0.10	
	0.2	0.19	0.03
No. pulgones + No. curculiónidos → Prop. sem. viables (c + e)	-0.5	< 0.001	
	-0.3	0.001	0.33
Vías indirectas			
No. hormigas (→ No. pred. pulgones → No. pulgones) → Prop. sem. viables (a, b, c)	-0.02	0.14	
No. hormigas (→ No. curculiónidos) → Prop. sem. viables (d, e)	0.05	0.13	

VIDEO A3.1 Comportamientos que use para calcular los índices de agresividad de las hormigas ordeñadoras en las confrontaciones con curculiónidos (*Rhinocyllus conicus*) (comportamientos: ‘huida’, ‘antenación’, ‘amenaza’, ‘mordeduras cortas’, ‘mordeduras largas’, y ‘flexión del abdomen’). Link al [Video A3.1](#)

VIDEO A3.2 Experimento a campo en el que evalué la probabilidad de que *D. tener* expulse de las plantas al curculiónido *Rhinocyllus conicus*. Link al [Video A3.2](#)

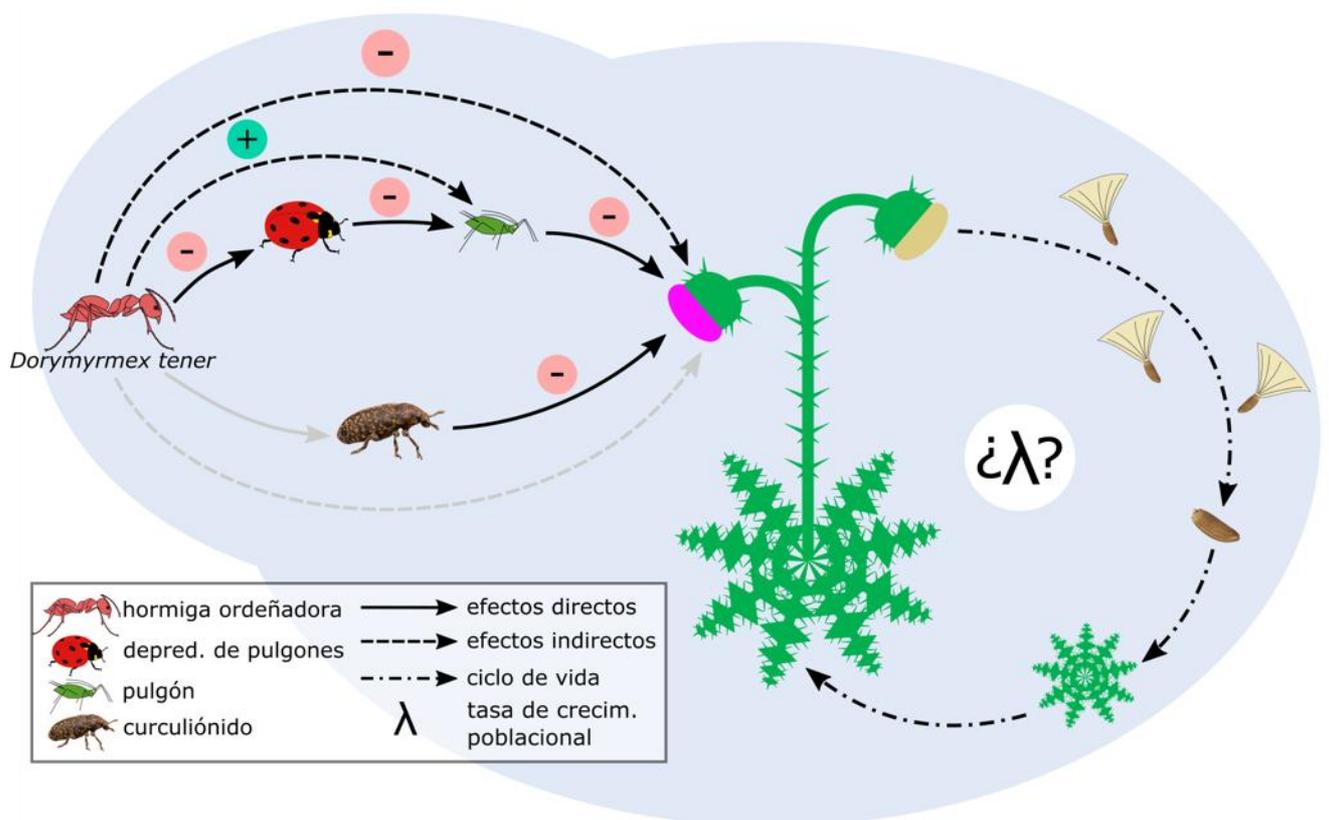
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO 2 – FOCO EN LAS HORMIGAS Y PULGONES

CAPITULO 3 – FOCO EN LA ADECUACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 4 – FOCO EN LA POBLACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA: LAS HORMIGAS ORDEÑADORAS NO AFECTAN LA INVASIÓN DEL CARDO

CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN GENERAL



RESUMEN

Para controlar la invasión de especies, es clave identificar los factores que disminuyen el crecimiento poblacional de las especies exóticas. Las hormigas ordeñadoras pueden disminuir la reproducción de las plantas exóticas al incrementar la abundancia y daño de los pulgones. Se desconoce si este efecto indirecto de las hormigas se traduce en una disminución del crecimiento poblacional de las plantas exóticas. Estudié un ensamble de hormigas ordeñadoras nativas (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*) que visitan al cardo exótico *Carduus thoermeri*. Las hormigas consumen la melaza de los pulgones del cardos y las hormigas protegen a los pulgones de sus depredadores naturales. Los cardos son además atacados por *Rhinocyllus conicus*, que es un controlador biológico exótico. Para cuantificar y comparar el efecto de las hormigas y curculiónidos sobre el crecimiento poblacional (λ) del cardo, usé modelos de proyección integral (MPI) que se basan en componentes de adecuación (crecimiento, supervivencia, y reproducción). Para construir los MPI, realicé censos de cardos durante cuatro años y estimé el crecimiento, supervivencia, y reproducción de los cardos con hormigas y *R. conicus*. Las poblaciones de *C. thoermeri* están creciendo en la región. Consideradas en conjunto, las hormigas ordeñadoras no afectaron los componentes de adecuación y el λ de *C. thoermeri*. Consideradas individualmente, *D. tener* fue la única especie que redujo la reproducción y el λ de *C. thoermeri*, aunque este último no de manera significativa. El controlador biológico *R. conicus* redujo la reproducción y el λ de *C. thoermeri*. A pesar de estos resultados, el λ de *C. thoermeri* mostró una fuerte variación temporal, lo que sugiere que otros factores son importantes para explicar la invasión de esta planta. Discuto sobre los cambios en las precipitaciones como un posible factor que explica la variabilidad observada en el λ de *C. thoermeri*. En conjunto, mis resultados indican que i) *C. thoermeri* es una planta altamente invasora en

la región, ii) las hormigas ordeñadoras no resisten la invasión de *C. thoermeri*, y iii) la presencia de *R. conicus* y los cambios en el régimen de precipitaciones son importantes para la invasión de *C. thoermeri*. Este estudio destaca la importancia de usar un enfoque poblacional para examinar los efectos de las interacciones bióticas en la invasión de especies.

PALABRAS CLAVE: Herbivoría, Hormigas ordeñadoras de pulgones, Plantas invasoras, Pulgones, Resistencia biótica, Tasa de crecimiento poblacional

ABSTRACT

To control species invasion, it is critical to identify factors that decrease exotic species population growth. Aphid-tending ants can decrease exotic plant reproduction by increasing the abundance and damage of aphids. However, we ignore whether this indirect effect of ants translates into decreased population growth of exotic plants. I studied an assemblage of native aphid-tending ants (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, and *D. richteri*) that visit the exotic thistle *Carduus thoermeri*. Ants consume thistle aphids' honeydew and protect the aphids from their natural predators. Thistles are also attacked by *Rhinocyllus conicus*, an exotic biological controller. To quantify and compare the effect of ants and weevils on thistle population growth (λ), I used integral projection models (IPM) based on fitness components (growth, survival, and reproduction). To build the IPM, I conducted a four-year thistle census and estimated growth, survival, and reproduction of thistles with ants and *R. conicus*. *Carduus thoermeri* populations are growing in the region. Taken together, aphid-tending ants did not affect *C. thoermeri* fitness components and λ . At the species-specific level, the ant *D. tener* reduced *C. thoermeri* reproduction and λ , although the latter not significantly. The biological controller *R. conicus* reduced *C. thoermeri* reproduction and λ . Despite these results, *C. thoermeri* λ showed strong temporal variation, suggesting that other factors can be important in explaining thistle invasion. I discuss about the changes in precipitation regime as a possible factor explaining the observed variability in *C. thoermeri* λ . Collectively, my results indicate that i) *C. thoermeri* is a highly invasive plant in the region, ii) aphid-tending ants do not resist *C. thoermeri* invasion, and iii) the presence of *R. conicus* and the changes in precipitation regime are important for *C. thoermeri* invasion. This research underlines the value of

using population level analyses to assess the outcomes of biotic interactions on species invasion.

KEYWORDS: Aphids, Aphid-tending ants, Biotic resistance, Herbivory, Invasive plants, Population growth rate

INTRODUCCIÓN

Hay un fuerte vínculo entre demografía e invasión de especies (Ramula *et al.* 2008; Burns *et al.* 2013; Salguero-Gómez 2017; Jelbert *et al.* 2019). Los estudios demográficos describen la dinámica de las poblaciones mediante parámetros. Por ejemplo, la tasa de crecimiento poblacional (λ) es un parámetro indicador del crecimiento ($\lambda > 1$), estabilidad ($\lambda = 1$), o decrecimiento ($\lambda < 1$) de las poblaciones. λ además puede considerarse una estimación de la “adecuación global” de una especie, ya que su valor está influenciado por medidas de “adecuación individual” como la supervivencia, crecimiento, y reproducción de las especies (Lande 1982; van Groenendael *et al.* 1988; García & Ehrlén 2009). Como las invasiones de especies son procesos fundamentalmente poblacionales, λ es un excelente parámetro para cuantificar el poder de invasión de las especies exóticas y además para examinar hipótesis de invasión (e.g., resistencia biótica e ‘colapso invasivo’ en Falcón *et al.* 2017). Para comprender el proceso de invasión de especies, es importante analizar la dinámica poblacional de las especies exóticas en los ambientes invadidos.

La hipótesis de la resistencia biótica afirma que las comunidades nativas resisten la invasión de especies exóticas (Elton 1958; Parker & Hay 2005; Maron & Vilà 2001). La herbivoría, competencia, y/o depredación de las especies locales pueden afectar negativamente la supervivencia, crecimiento, y/o reproducción de las especies exóticas (Levine *et al.* 2004; Parker & Hay 2005; Mitchell *et al.* 2006). Para comprender si estos efectos negativos afectan la invasión de especies, es crítico analizar qué ocurre en el nivel poblacional. Esto es así ya que las tasas de crecimiento poblacional suelen estar más influenciadas por los cambios en algunos componentes de adecuación que en otros (Caswell 2001). Así, la invasión de especies dependerá de qué componentes de adecuación son afectados y en qué medida. Finalmente, conocer el impacto de las

especies locales sobre la dinámica poblacional de las especies exóticas es importante para desarrollar nuevas estrategias de control de especies exóticas.

El cardo *Carduus thoermeri* (Asteraceae) es una planta invasora que genera pérdidas económicas en la agricultura y ganadería (Desrochers *et al.* 1988; Popay & Medd 1990; Wardle *et al.* 1991). En el NO de la Patagonia (Argentina), *C. thoermeri* es atacado por el pulgón *Brachycaudus cardui* y el controlador biológico de cardos *Rhinocyllus conicus* (Enrique de Briano *et al.* 2013). Los pulgones son atendidos por tres especies de hormigas ordeñadoras (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri*). Las especies de hormigas varían en la calidad y cantidad de defensa que proveen a los pulgones contra sus depredadores naturales (CAPÍTULO 2). Solo la especie *D. tener* incrementa la abundancia de pulgones sobre las plantas, lo que reduce la reproducción del cardo (CAPÍTULO 2 y 3). Si bien las hormigas ordeñadoras pueden afectar negativamente la adecuación de *C. thoermeri*, aún se desconoce si su efecto sobre la adecuación se traduce en un impacto en el crecimiento poblacional de *C. thoermeri*.

Mi hipótesis es que las hormigas ordeñadoras afectan negativamente las tasas de crecimiento poblacional de *C. thoermeri* al incrementar la abundancia y daño de los pulgones sobre la planta. De acuerdo a los resultados del CAPÍTULO 2 y 3, espero que la hormiga ordeñadora *D. tener* afecte negativamente la adecuación de *C. thoermeri* (supervivencia, crecimiento, y reproducción) y, a nivel poblacional, espero que los efectos negativos de *D. tener* sobre la adecuación de *C. thoermeri* provoquen una disminución de su crecimiento poblacional (respecto a las plantas sin hormigas o con las especies de hormigas menos agresivas). Además, comparo el efecto de las hormigas *vs.* el agente de control biológico *R. conicus*. Si las hormigas son agentes de biocontrol

eficaces, espero que las hormigas tengan un efecto negativo igual (o mayor) que el efecto de *R. conicus* sobre las tasas de crecimiento poblacional de *C. thoermeri*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de estudio

Al estudio lo realicé en 2017-2020 en dos sitios (superficie total de 20600m²) en el Este de la ciudad de San Carlos de Bariloche. Los sitios están separados por 2km de distancia. La vegetación de los sitios es la característica de la estepa Patagónica y además hay una gran riqueza de plantas exóticas. Para más detalles, ver la sección *Sitio de estudio* del CAPÍTULO 1.

Carduus thoermeri tiene un ciclo de vida bienal. Las plántulas emergen a principios de la primavera y forman una roseta que crece durante un año. En el siguiente año, la roseta se consume y forma uno o varios tallos con inflorescencias (hasta 27 tallos considerando los tallos secundarios; observación personal). Las inflorescencias crecen durante la primavera y, hacia mediados de verano, comienzan a producir semillas. Las semillas tienen *pappus*, que es una estructura que favorece la dispersión por el viento. El pico de liberación de las semillas coincide con el periodo más caluroso (enero-febrero en la zona de estudio, observación personal). Las semillas de *C. thoermeri* forman bancos de semillas en el suelo de ~10 años de persistencia (Shea & Kelly 1998). Luego de la dispersión de las semillas, los cardos se secan y mueren. Para más detalles de *C. thoermeri*, ver la sección *Planta invasora* del CAPÍTULO 1.

Dorymyrmex tener, *Camponotus distinguendus*, y *D. richteri* son hormigas ordeñadoras que visitan a *C. thoermeri* para alimentarse de la melaza del pulgón *Brachycaudus cardui*. Estas especies difieren en su abundancia tanto en los parches de *C. thoermeri* como sobre los cardos y tienen distinta agresividad hacia los depredadores

de pulgones y el curculiónido *R. conicus* (ver CAPÍTULO 2 y CAPÍTULO 3). *Dorymyrmex tener* es la especie más frecuente en los parches *C. thoermeri* y abundante sobre las plantas. *Dorymyrmex tener* es además la especie más agresiva contra los depredadores de pulgones y *R. conicus* (ver CAPÍTULO 2 y CAPÍTULO 3). Las poblaciones de *B. cardui* crecen más rápidamente en los cardos con la hormiga *D. tener* que en los cardos con *C. distinguendus* o *D. richteri* (ver CAPÍTULO 2). Al incrementar la abundancia y daño de los pulgones, *D. tener* afecta negativa e indirectamente la producción de semillas de *C. thoermeri*, mientras que las especies menos agresivas, *C. distinguendus* y *D. richteri*, no tienen efecto sobre la reproducción del cardo (ver CAPÍTULO 3). Ninguna de las especies de hormigas afecta la abundancia de *R. conicus* en las plantas (ver CAPÍTULO 3). Para más detalles de historia natural de las hormigas y *R. conicus*, ver las secciones *Hormigas ordeñadoras* y *Controlador biológico de cardos* en el CAPÍTULO 1.

Datos para el modelo poblacional del cardo

Para armar el modelo poblacional de *C. thoermeri*, realicé censos de cardos en los dos sitios de muestreo. Para reflejar el ciclo de vida bienal de *C. thoermeri*, agrupé los censos en dos periodos de dos años: 2017-2019 y 2018-2020. En 2017 realicé censos en los tres últimos meses del año; en 2018 y 2019 realicé ocho censos por año; y en 2020 realicé tres censos en los tres primeros meses del año. Realicé censos con mayor frecuencia durante los meses cálidos (octubre-marzo: un censo por mes) que durante los meses fríos (abril-septiembre: un censo cada tres meses). Este diseño me permitió examinar con mayor detalle la interacción entre cardos-hormigas y entre cardos-curculiónidos, ya que las hormigas y *R. conicus* están plenamente activos en los meses de mayor temperatura.

El ciclo de vida de *C. thoermeri* tiene cuatro fases: i) banco de semilla, ii) vegetativa, iii) reproductiva, y iv) senescencia (Fig. 4.1). Las semillas pueden permanecer en el banco de semillas (Fig. 4.1a) o germinar y formar plántulas de cardo (Fig. 4.1b). Para determinar la probabilidad que las semillas ingresen al banco de semillas, realicé ensayos de germinación en macetas en el invernadero. Utilicé solo semillas viables de cardo (ver Fig. 3.2 en el CAPÍTULO 3) que sembré individualmente en macetas con tierra de la estepa. Dejé que las semillas germinen durante 2 meses y luego conté la cantidad de macetas con plántulas y sin plántulas. Con estos datos calculé la proporción de germinación (*prop. de germinación* = *no. de macetas germinadas/no. total de macetas*) y la proporción de no germinación (*prop. de no germinación* = *no. de macetas no germinadas/no. total de macetas*). Considere la proporción de no germinación como la proporción de ingreso de las semillas al banco de semillas. Para determinar la probabilidad que las semillas del banco de semillas produzcan plántulas de cardo, usé resultados del artículo Jongejans *et al.* (2008) (ver $S_{recruit\ bank}$ en tabla 1 del artículo). La fase vegetativa del cardo se caracteriza por un crecimiento horizontal en el cual las hojas de la roseta se alargan y ensanchan. Al tamaño de las rosetas lo estimé con el área de roseta. El área de roseta lo calculé basándome en su forma circular plana (ver Fig. 1.3b en el CAPÍTULO 1):

Tamaño de roseta = $\pi \left(\frac{\text{diámetro de roseta}}{2} \right)^2$, donde ‘diámetro de roseta’ es el promedio de dos medidas perpendiculares. Para estimar el componente de adecuación crecimiento, consideré los tamaños de las rosetas en marzo y noviembre. Estos dos meses son buenos momentos para medir el crecimiento de roseta porque en marzo hay una gran cantidad de rosetas nuevas y fácilmente identificables, y en noviembre las rosetas pasan a la fase reproductiva, momento luego del cual el tamaño de roseta deja de

ser un buen estimador de crecimiento porque las mismas comienzan a decrecer de tamaño hasta secarse. Luego de aproximadamente un año de crecimiento, las rosetas pueden permanecer en fase vegetativa (Fig. 4.1c) o entrar en fase reproductiva (Fig. 4.1d). En la fase reproductiva, la planta crece en sentido vertical formando tallos primero y luego inflorescencias. Para estimar el componente de adecuación reproductivo, conté los tallos e inflorescencias de las plantas y estimé el número de semillas por inflorescencia y por planta. Para estimar el número de semillas por inflorescencia, dependiendo del tamaño de la planta, seleccioné al azar 1-3 inflorescencias y las envolví en una bolsa de papel que evitó la pérdida de semillas causada por la dispersión natural. Luego junté las bolsas y conté las semillas de las inflorescencias en el laboratorio. Para contar las semillas, tomé fotografías del conjunto de semillas de cada inflorescencia y usé ImageJ Software (Schneider *et al.* 2012). Para estimar el número de semillas en una planta, multipliqué el número de inflorescencias por el número de semillas en una inflorescencia (cuando colecté 2 o más inflorescencias en una planta, calculé el promedio de semillas). Las semillas dispersadas pueden entrar al banco de semillas (Fig. 4.1e) o germinar y producir plántulas (Fig. 4.2f). Para estimar el reclutamiento de nuevas plantas, utilicé cuadrículas de 50 x 50 cm que distribuí al azar en los parches de cardo (N = 50 por sitio). Coloqué las cuadrículas en noviembre, mes en el cual hay un alto reclutamiento de plántulas con un tamaño fácilmente identificable. Con este método pude calcular la densidad de renovales (densidad de renovales = número de renovales/m²). Luego, para estimar el reclutamiento de cardos en cada sitio, multipliqué la densidad de renovales por el área del sitio. Para determinar las áreas de los sitios, use Google Earth (Gorelick *et al.* 2017). Para estimar el componente de adecuación supervivencia, controlé la supervivencia de las rosetas a lo largo de los censos. *Carduus thoermeri* es una planta monocárpica, i.e.,

muere luego de un evento reproductivo. Así, distinguir la muerte post floración de otras fuentes de mortalidad (e.g., herbivoría, sequía) es importante porque la senescencia natural luego de la floración es parte del ciclo de vida de la planta, mientras que la muerte antes de la floración tiene un efecto negativo para la población. La probabilidad de floración es la probabilidad de que una roseta de tamaño dado produzca inflorescencias. Para el caso del cardo y por lo explicado anteriormente, la curva de la probabilidad de floración será una imagen especular de la curva de supervivencia. Por este motivo, solo reporto en los resultados la curva de supervivencia.

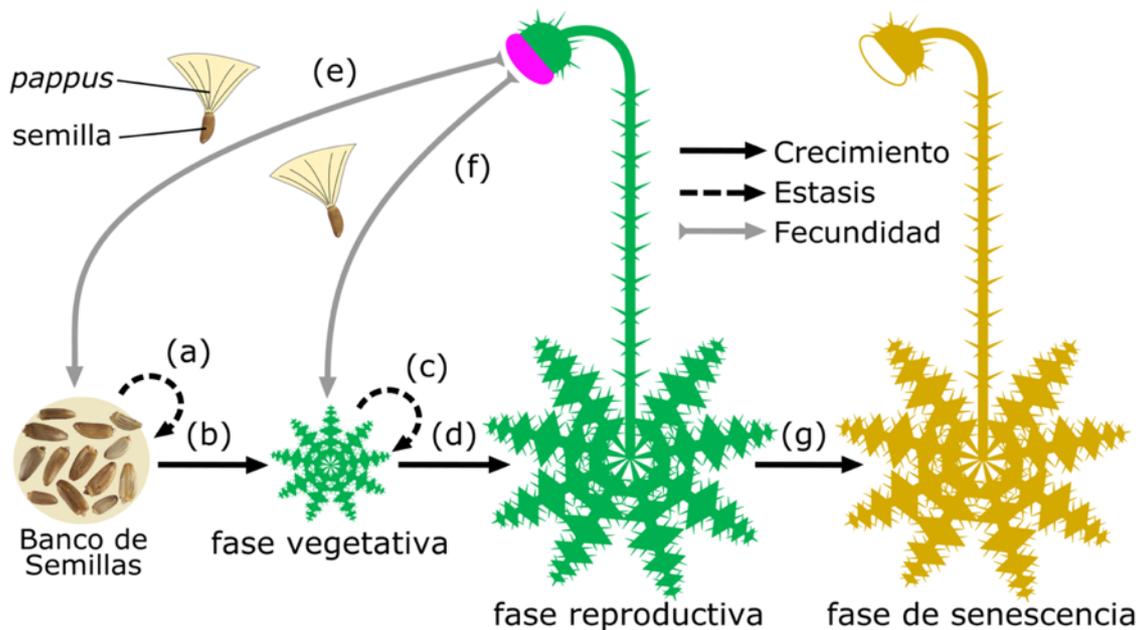


FIG. 4.1 Ciclo de vida del cardo *C. thoermeri*. Las semillas forman bancos de semillas en el suelo con una persistencia de ~10 años. Las semillas del banco de semillas pueden (a) permanecer en el banco o (b) germinar. La germinación inicia la fase vegetativa o de roseta. La fase vegetativa se caracteriza por un crecimiento horizontal de la roseta que dura cerca de un año. Luego de dicho tiempo las rosetas pueden (c) permanecer en dicho estado o (d) iniciar la fase reproductiva. La fase reproductiva se caracteriza por un crecimiento vertical en el cual se producen tallos e inflorescencias y dura cerca de 4 meses. Luego de la reproducción, las semillas se dispersan principalmente por el viento asistidas por una estructura especializada (*pappus*). Ya en el suelo, las semillas pueden (e) formar un banco de semillas o (f) germinar. Una vez dispersadas todas las semillas, los cardos entran en la (g) fase de senescencia, en la cual se secan y mueren.

En lo que respecta a las hormigas, en cada censo asigné a los cardos un estado de ocupación según si presentaba o no hormigas. Asigné el estado "sin hormigas"

cuando la planta no presentaba hormigas ordeñadoras y el estado "con hormigas" cuando la planta presentaba hormigas ordeñadoras. Dentro del estado "con hormigas", discriminé las hormigas por especie (*D. tener*, *C. distinguendus*, y *D. richteri*). Como la ocupación de una planta por una misma especie de hormiga raramente se mantiene durante todo el ciclo de vida de la planta, definí criterios para categorizar los estados de ocupación de las plantas. Así, consideré que una planta se encontraba ocupada por una especie de hormiga en particular cuando en dicha planta hubo una sola especie de hormiga en $\geq 50\%$ de los censos y en el resto de los censos no hubo hormigas. Como mi objetivo fue medir los efectos individuales de las especies de hormigas sobre las plantas, no incluí en los análisis plantas con más de una especie de hormiga y las plantas con recambio de hormigas durante los censos.

En lo que respecta al curculiónido *R. conicus*, para determinar su efecto sobre la reproducción de *C. thoermeri*, colecté inflorescencias maduras de los cardos censados (N = 1-3 inflorescencias, dependiendo del tamaño de la planta). En el laboratorio abrí las inflorescencias y constaté si estaban infestadas o no por *R. conicus*. El constatar la presencia de adultos de *R. conicus* me permite asegurar que los curculiónidos completaron exitosamente su ciclo de vida en la inflorescencia. Esto es clave, ya que la fase de larva de *R. conicus* es la que provoca el daño sobre la producción de semillas del cardo. En todas las inflorescencias colectadas, conté las semillas viables y no viables. Para determinar el efecto de *R. conicus* sobre la supervivencia y crecimiento de *C. thoermeri*, determiné la presencia de individuos adultos de *R. conicus* directamente sobre las plantas censadas. Estos muestreos los llevé a cabo durante los censos de *C. thoermeri* de primavera y verano, que es el periodo en el cual está activo *R. conicus* sobre las plantas. Para más detalles sobre *R. conicus*, ver la sección *Controlador biológico de cardos* del CAPÍTULO 1.

Descripción de variables ambientales

Realicé los censos de cardos durante 4 años. La variabilidad natural de la temperatura, precipitación, y el viento pueden ser importantes en la dinámica poblacional de *C. thoermeri*. La temperatura y las precipitaciones afectan la dinámica poblacional de las plantas (Töpfer *et al.* 2018). El viento disminuye la abundancia del pulgón *B. cardui* sobre los cardos (Devegili *et al.* 2019) y esto puede afectar la abundancia de hormigas ordeñadoras sobre las plantas. Para detectar posibles efectos de la temperatura, precipitación, y viento, sobre el crecimiento poblacional de *C. thoermeri*, busqué datos de estas variables en los 4 años de estudio (i.e., 2017-2020; bases de datos de www.weatherunderground.com y www.worldweatheronline.com). Para saber si los datos ambientales en mis cuatro años de estudio fueron atípicos, los contrasté con datos históricos de un periodo mayor (2010-2020). Como el cardo tiene un ciclo de vida bienal, las comparaciones de las variables ambientales las hice en periodos de dos años.

*Efectos de las hormigas y el curculiónido *Rhinocyllus conicus* sobre la adecuación del cardo*

Medí tres componentes de adecuación de *C. thoermeri*: supervivencia, crecimiento, y reproducción. Para los modelos poblacionales use el tamaño de roseta como variable predictora de los componentes de adecuación (ver *Dinámica poblacional a continuación*). Para determinar las relaciones funcionales entre el tamaño de roseta y la supervivencia, crecimiento, o reproducción, ajusté modelos por el método de máxima verosimilitud y el criterio de información de Akaike (AIC) y bayesiano (BIC) (Kuha 2004) (Apéndice, Tabla A4.1). En los modelos de adecuación consideré el estado de ocupación de los cardos (i.e., con y sin hormigas; con y sin *R. conicus*). Para considerar el ciclo bienal de *C. thoermeri*, separé los datos en dos periodos de dos años (2017-2019

y 2018-2020; Apéndice, Fig. A4.1). Como realicé los censos en dos sitios, consideré en los modelos de adecuación los sitios de estudio como covariable. Además, como los efectos de las hormigas sobre *C. thoermeri* dependen de la especie, analicé: i) efectos a nivel del gremio de hormigas (i.e., *D. tener* + *C. distinguendus* + *D. richteri*) y ii) efectos a nivel especie-específicos (i.e., *D. tener* / *C. distinguendus* / *D. richteri*). Para más detalles, ver “Método detallado para construir los modelos de adecuación del cardo” en el Apéndice. Los análisis los hice en R (R Core Team 2015).

Efectos de las hormigas y el curculiónido Rhinocyllus conicus sobre las tasas de crecimiento poblacional (λ) del cardo

Para examinar si las hormigas y *R. conicus* afectan el λ de *C. thoermeri*, use modelos de proyección integral (de ahora en adelante, MPI; MPI = IPM *integral projection model*; Merow *et al.* 2014). Para construir los MPI usé los modelos de adecuación de *C. thoermeri* (modelos de adecuación = *vital rate models*; Merow *et al.* 2014). En los modelos de adecuación utilicé el tamaño de roseta como variable de estado (Merow *et al.* 2014). Con los MPI estimé los λ s para las condiciones de los cardos con/sin hormigas y con/sin curculiónidos. El λ indica si la población estudiada está creciendo ($\lambda > 1$), estable ($\lambda \cong 1$), o decreciendo ($\lambda < 1$) (Sibly & Hone 2002; García & Ehrlén 2009). El λ de *C. thoermeri* en las condiciones con/sin hormigas y con/sin curculiónidos, me permite determinar si las hormigas y curculiónidos afectan el proceso de invasión de *C. thoermeri*. Para más detalles sobre el modelo poblacional, ver en el Apéndice la sección “Método detallado para construir los modelos de proyección integral”. Los análisis los hice en R con el paquete IPMpack (Metcalf *et al.* 2013; Merow *et al.* 2014).

RESULTADOS

Descripción de los estados de ocupación de los cardos por hormigas y curculiónidos

Censé 736 cardos; 360 durante 2017-2019 y 376 durante 2018-2020. El 67% de los cardos estuvieron ocupados por hormigas y el 33% restante no estuvo ocupado por hormigas. De los cardos ocupados por hormigas, el 88% estuvo ocupado por una única especie de hormiga y el 12% restante mostró recambio de especies de hormigas entre censos o mostró dos especies de manera simultánea en al menos un censo. De los cardos que estuvieron ocupados por una única especie de hormiga, el 61% estuvieron ocupados por *D. tener*, el 21% por *C. distinguendus*, y el 18% por *D. richteri*. Respecto al curculiónido *R. conicus*, el 36% de los cardos tuvo inflorescencias infestadas con *R. conicus* y el 64% restante no tuvo inflorescencias infestadas con *R. conicus*.

Descripción de las variables ambientales

La precipitación fue la única variable ambiental que mostró una fuerte variación en el periodo de estudio. La precipitación fue 53% más abundante en 2018-2020 que en 2017-2019 y 47% más abundante en 2018-2020 respecto al valor de precipitación histórico (Apéndice, Tabla A4.2). La temperatura y la velocidad del viento mostraron poca variación tanto para 2017-2019 vs. 2018-2020 (2 a 3% de variación) como en la comparación con los valores históricos (1 a 8% de variación; Apéndice, Tabla A4.2).

*Efectos de las hormigas y el curculiónido *Rhinocyllus conicus* sobre la adecuación del cardo*

Las diferencias de AIC entre los modelos de mejor ajuste y los modelos nulos sin el tamaño de roseta fueron 1769, 544, y 149 para el crecimiento, supervivencia y reproducción, respectivamente. Por lo tanto, incluir el tamaño de roseta en los modelos

mejoró sustancialmente el ajuste (Symonds & Moussalli 2011) apoyando su uso como variable de estado para estructurar el MPI.

Las relaciones entre el tamaño de roseta, los componentes de adecuación de *C. thoermeri*, y la presencia de hormigas, pueden observarse en las Fig. 4.2a-c. Las hormigas no tuvieron efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de *C. thoermeri* ($p > 0.05$ para los valores p brutos y ajustados por Bonferroni; Fig. 4.2d,e). Solo la hormiga *D. tener* afectó negativamente la reproducción de *C. thoermeri*, y el efecto fue más fuerte en 2017-2019 ($p = 0.004$) que en 2018-2020 ($p = 0.03$; Fig. 4.2f).

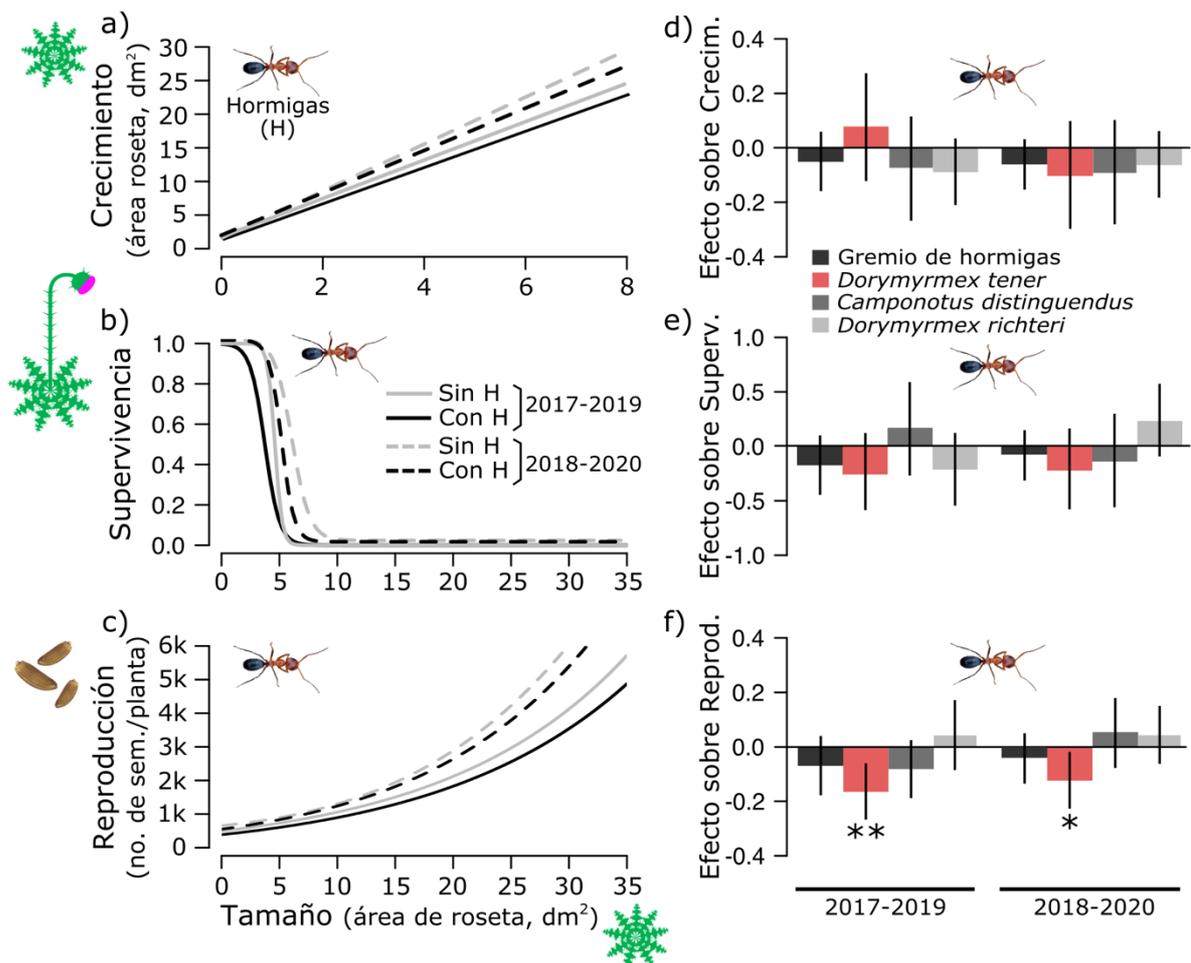


FIG. 4.2 Efectos de las hormigas sobre las componentes de adecuación de *Carduus thoermeri*. Relación entre el tamaño de la roseta de *C. thoermeri* y su a) crecimiento, b) supervivencia, y c) reproducción (cantidad de semillas por planta) según la presencia o ausencia de hormigas sobre las plantas. Efectos de las hormigas sobre el d) crecimiento, e) supervivencia, y f) reproducción de *C. thoermeri*. Los efectos se obtuvieron relativizando la variable en la condición con hormigas según la variable en la condición sin hormigas. Las barras positivas o negativas indican efectos positivos o negativos de las hormigas, respectivamente. Cuando el error estándar (bigotes) corta la línea del cero

indica que no hay efecto de las hormigas sobre el componente de adecuación de *C. thoermeri* y cuando el error estándar no corta la línea de cero indica que sí hay efecto. En todos los gráficos se discriminan los datos según los periodos de estudio 2017-2019 (N = 358 plantas) y 2018-2020 (N = 374 plantas). Estos periodos de dos años coinciden con el ciclo de vida bienal de *C. thoermeri*. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Las relaciones entre el tamaño de roseta, los componentes de adecuación de *C. thoermeri*, y la presencia de *R. conicus* pueden observarse en las Fig. 4.3a-c.

Rhinocyllus conicus no tuvo efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de *C. thoermeri* ($p > 0.05$ para los valores p brutos y ajustados por Bonferroni; Fig. 4.3d,e).

Pero sí afectó negativamente la reproducción de *C. thoermeri* ($p < 0.001$ para los valores p brutos y ajustados por Bonferroni); y su efecto fue mayor en 2017-2019 ($p < 0.001$) que en 2018-2020 ($p < 0.01$) (Fig. 4.3f).

Combinando los dos periodos de estudio, el efecto de *R. conicus* sobre el componente reproductivo de *C. thoermeri* fue 37% más alto que el efecto de la hormiga ordeñadora *D. tener* (comparar Fig. 4.2f vs. Fig. 4.3f). El sitio de estudio no influyó sobre el crecimiento, supervivencia y reproducción de *C. thoermeri* ($p > 0.05$), por lo que de ahora en adelante trataré ambos sitios como uno solo.

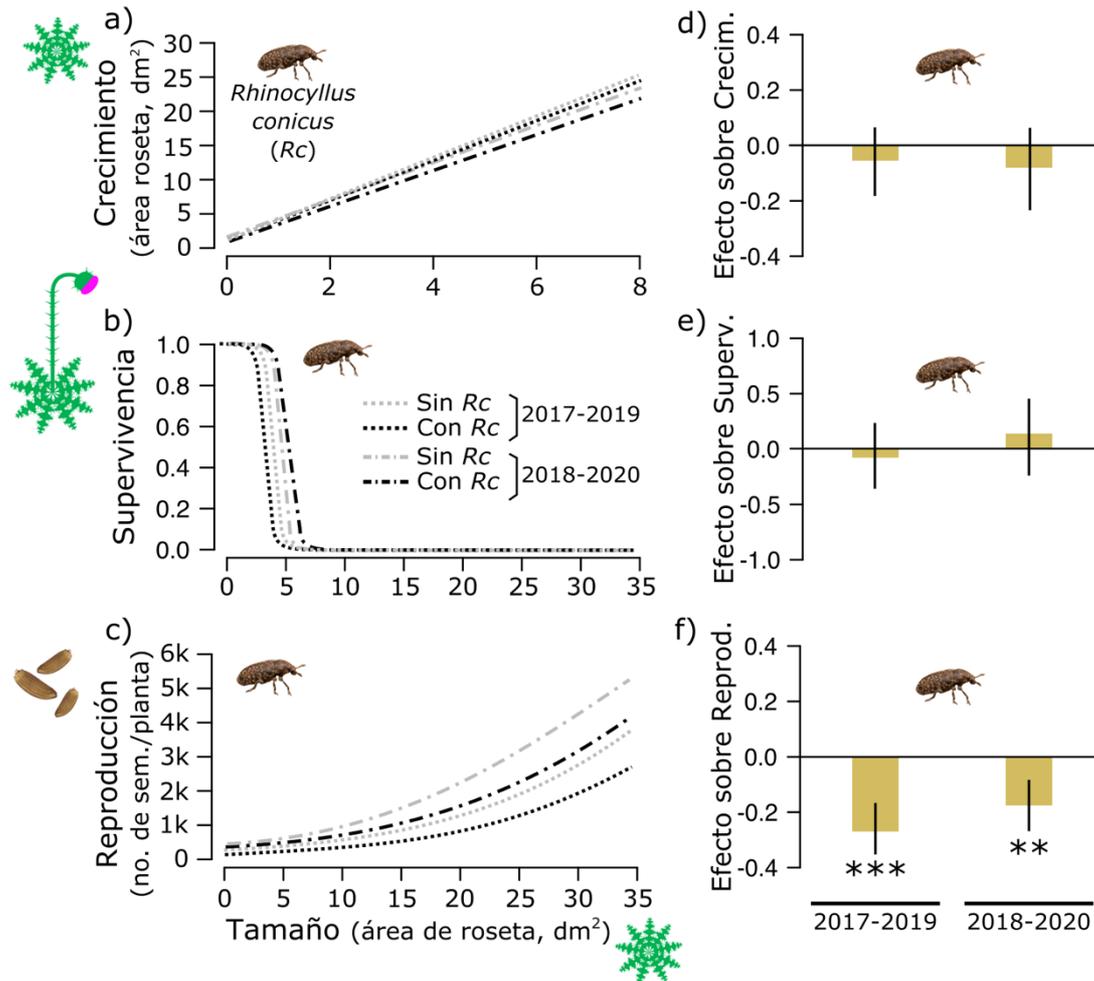


FIG. 4.3 Efectos de *Rhinocyllus conicus* sobre las componentes de adecuación de *Carduus thoermeri*. *Rhinocyllus conicus* es un curculiónido controlador biológico de cardos. Relación entre el tamaño de la roseta de *C. thoermeri* y su a) crecimiento, b) supervivencia, y c) reproducción (cantidad de semillas por planta) según la presencia o ausencia de *R. conicus* sobre las plantas. Efectos de *R. conicus* sobre el d) crecimiento, e) supervivencia, y f) reproducción de *C. thoermeri*. Los efectos se obtuvieron relativizando la variable en la condición con *R. conicus* según la variable en la condición sin *R. conicus*. Las barras positivas o negativas indican efectos positivos o negativos de *R. conicus*, respectivamente. Cuando el error estándar (bigotes) corta la línea del cero indica que no hay efecto de *R. conicus* sobre el componente de adecuación de *C. thoermeri* y cuando el error estándar no corta la línea de cero indica que sí hay efecto. En todos los gráficos se discriminan los datos según los periodos de estudio 2017-2019 (N = 358 plantas) y 2018-2020 (N = 374 plantas). Estos periodos de dos años coinciden con el ciclo de vida bienal de *C. thoermeri*. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Efectos de las hormigas y el curculiónido Rhinocyllus conicus sobre las tasas de crecimiento poblacional (λ) del cardo

Las poblaciones de *C. thoermeri* se encuentran en crecimiento, como lo evidencian los $\lambda > 1$ en la mayoría de los escenarios evaluados (Fig. 4.4). El λ de *C. thoermeri* no fue afectado por la presencia de hormigas ordeñadoras ($p > 0.05$ para los valores p brutos y ajustados por Bonferroni; Fig. 4.4). Sin embargo, las poblaciones de *C. thoermeri* mostraron una tendencia al decrecimiento en presencia de *D. tener* ($p = 0.07$ para el valor p bruto y ajustado por Bonferroni; Fig. 4.4). El curculiónido *R. conicus* tuvo un efecto negativo sobre el λ de *C. thoermeri* en el periodo 2017-2019 ($p = 0.004$; Fig. 4.4). Pero, en el periodo 2018-2020, *R. conicus* solo mostro una tendencia negativa sobre el λ de *C. thoermeri*. Globalmente, los λ de *C. thoermeri* mostraron una fuerte variación entre los periodos del estudio; siendo los λ s mayores en el periodo 2018-2020 que en 2017-2019 ($p < 0.05$ para los valores p brutos y ajustados por Bonferroni; Fig. 4.4).

El λ de *C. thoermeri* estuvo más influenciado por las diferencias en la reproducción que por las diferencias en el crecimiento y la supervivencia, como lo demuestran los valores de elasticidad de 0.64 para la producción de semillas y de 0.36 para el crecimiento y supervivencia (tomados conjuntamente).

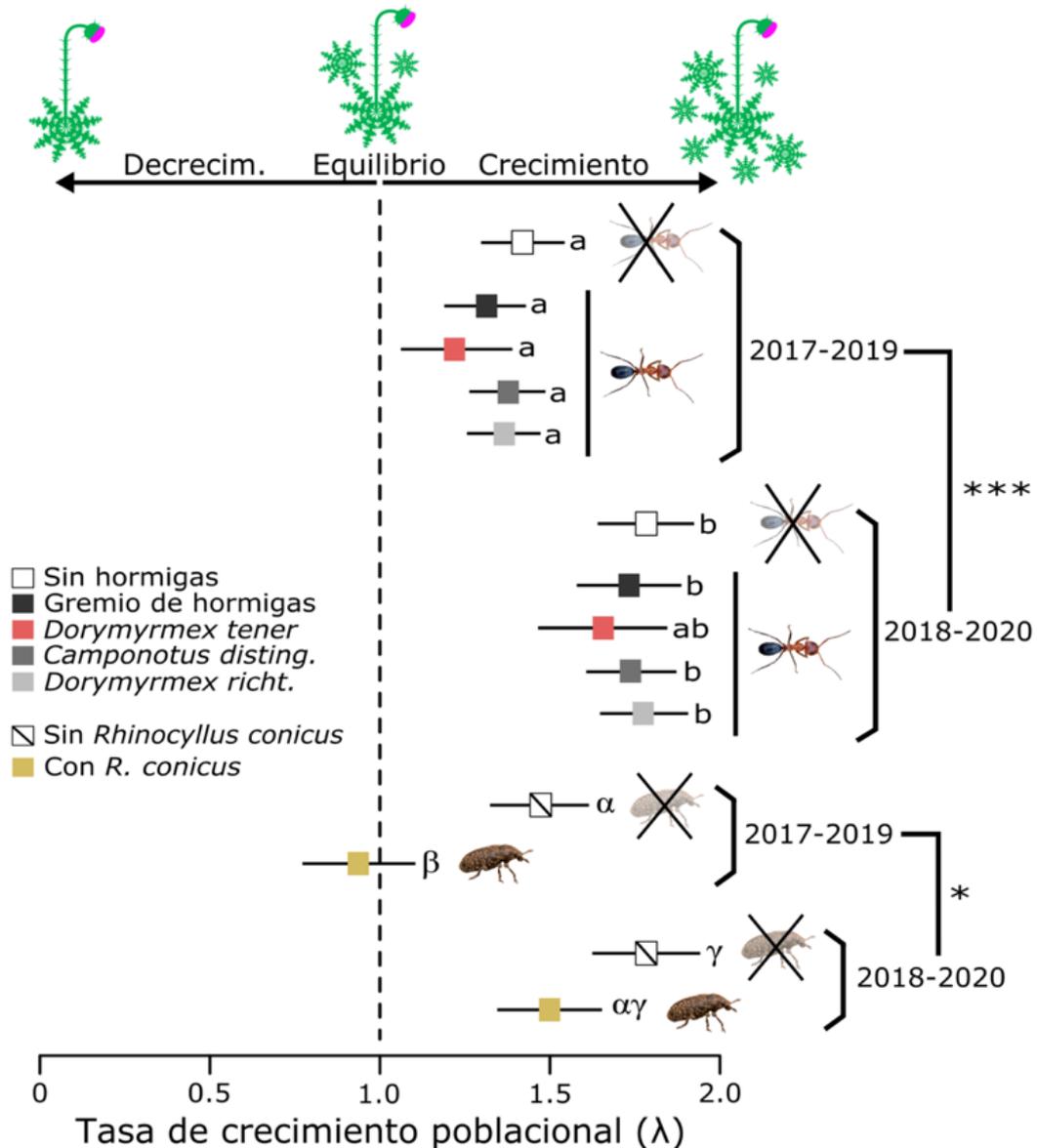


FIG. 4.4 Comparación del crecimiento poblacional del cardo *Carduus thoermeri* en estados de ocupación con/sin hormigas y con/sin el curculiónido *Rhinocyllus conicus*. El crecimiento poblacional se cuantifica con la tasa de crecimiento poblacional (λ). Cuando $\lambda < 1$, $\lambda \cong 1$, o $1 < \lambda$, la población de *C. thoermeri* está en decrecimiento, equilibrio, o crecimiento, respectivamente. Las condiciones de ocupación de las hormigas y *R. conicus* se comparan en dos periodos del ciclo de vida bienal del cardo: 2017-2019 y 2018-2020. Letras minúsculas distintas indican diferencias en el λ de *C. thoermeri* para las condiciones con/sin hormigas. Letras griegas distintas indican diferencias en el λ de *C. thoermeri* para las condiciones con/sin *R. conicus*. Las plantas sin hormigas o sin *R. conicus* son plantas que no tuvieron hormigas o *R. conicus* en condiciones naturales. Los asteriscos indican diferencias entre los periodos del estudio. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$; Valor marginal de $p = 0.07$ para *Dorymyrmex tener* en el periodo 2017-2019

DISCUSIÓN

Las especies exóticas establecen interacciones bióticas con las especies nativas, y estas interacciones pueden afectar la adecuación e impactar en el crecimiento poblacional y proceso de invasión de las especies exóticas (Richardson *et al.* 2000; Mitchell *et al.* 2006; White *et al.* 2006). Aquí mostré que el gremio de hormigas ordeñadoras nativas no afecta la adecuación ni el λ de *C. thoermeri*, una planta exótica atacada por pulgones. Sin embargo, en el nivel especie-específico, encontré que la hormiga *D. tener* afectó negativamente la reproducción de *C. thoermeri* y marginalmente el λ de *C. thoermeri*. Por otra parte, el controlador biológico *R. conicus* afectó negativamente tanto la reproducción como el λ de *C. thoermeri*. Los λ s de *C. thoermeri* mostraron además una fuerte variación entre los periodos de estudio, sugiriendo que otros factores no medidos podrían ser claves para explicar la invasión de *C. thoermeri*. Este estudio destaca la importancia de emplear análisis poblacionales para examinar los efectos de las interacciones bióticas en la invasión de especies.

Las hormigas ordeñadoras de pulgones afectan la adecuación de las plantas al incrementar el daño de los pulgones o al remover a los herbívoros no-pulgón sobre las plantas (Styrsky & Eubanks 2007). Estos efectos de las hormigas sobre la adecuación de las plantas no necesariamente implican que haya un impacto a nivel poblacional de las plantas hospedadas. Por ejemplo, si bien las hormigas defensoras del cactus *Ferocactus wislizeni* aumentan su producción de frutos, esto no afecta el crecimiento poblacional de la planta (Ford *et al.* 2015). La hormiga ordeñadora *D. tener* es la más agresiva del ensamble y la que proporciona el mejor servicio de defensa a los pulgones, lo que incrementa la supervivencia y abundancia de pulgones sobre las plantas (ver CAPÍTULO 2). La mayor abundancia de pulgones afecta negativamente la reproducción de *C. thoermeri* (Chalcoff *et al.* 2019). Por ende, *D. tener* podría conferir Resistencia biótica a

la invasión de *C. thoermeri* (ver CAPÍTULO 3). Aquí confirmé que *D. tener* tiene un efecto negativo sobre la reproducción de *C. thoermeri*, pero esta hormiga no afecta la dinámica poblacional del cardo, i.e., las plantas con *D. tener* no mostraron variación en el λ respecto a plantas sin hormigas. La ausencia de efecto de las hormigas a nivel poblacional podría explicarse por varios motivos. El efecto de *D. tener* sobre la reproducción de *C. thoermeri* podría no ser suficientemente grande para afectar la dinámica poblacional de *C. thoermeri*. El controlador biológico *R. conicus* tuvo un efecto 37% más fuerte que *D. tener* sobre la reproducción de *C. thoermeri* y esto sí se traduce en un efecto negativo sobre el λ de *C. thoermeri*. Si bien *D. tener* afectó el componente de adecuación reproductivo, no afectó el crecimiento y supervivencia de las plantas, que son componentes que también influyen en el λ de *C. thoermeri*. Si bien no pude incluir la abundancia de *D. tener* en mis modelos, esto puede ser importante para explicar los cambios en el λ de *C. thoermeri*. Mayor cantidad de hormigas atendiendo a los pulgones implica una mayor cantidad de defensa frente a sus depredadores naturales y esto puede ser relevante para la reproducción de *C. thoermeri* (CAPÍTULO 2 Y 3). Así, la presencia de *D. tener* en alta abundancia podría tener un impacto negativo sobre el λ de *C. thoermeri*, pero el modelo poblacional no lo revela.

El efecto de *R. conicus* sobre el componente reproductivo de *C. thoermeri* es un 37% mayor que el de la hormiga *D. tener*, sin embargo en el CAPÍTULO 3 evidencié que la vía de efecto de los pulgones es más fuerte que la vía de efecto del curculiónido (ver Fig. 3.7 y datos de *D. tener* en Tabla A3.1). Esta discrepancia se puede explicar porque la variable que use para estimar el componente reproductivo de *C. thoermeri* no fue la misma; en el CAPÍTULO 3 use la proporción de semillas viables en una inflorescencia, mientras que aquí use la cantidad de semillas viables en una planta. Posiblemente los pulgones tienen un efecto mayor que *R. conicus* a nivel de la inflorescencia, mientras

que *R. conicus* tiene un efecto mayor que los pulgones a nivel de planta. Esto explicaría el mayor efecto poblacional de *R. conicus* al compararlo con las plantas con *D. tener* y pulgones.

Los estudios poblacionales son importantes para definir estrategias de manejo de las especies invasoras. Los resultados del CAPÍTULO 3 me sugirieron que las hormigas agresivas podrían actuar como agentes de control biológico de la invasión de plantas exóticas. Pero aquí evidencié que el efecto de las hormigas agresivas sobre la reproducción no necesariamente se traduce en un impacto sobre el λ de *C. thoermeri*. Por otra parte, *R. conicus* disminuyó el λ de *C. thoermeri*, justificando su uso como agente de control biológico de cardos. Aquí es importante destacar tres puntos. Primero, que los λ s de *C. thoermeri* fueron mayores a 1 en todas las condiciones menos una, en la que λ fue ~ 1 (plantas con *R. conicus* en 2017-2019). Evidenciando que *R. conicus* solo contribuiría a mitigar la invasión de *C. thoermeri* y no a frenarla (i.e., $\lambda = 1$) o, menos aún, revertirla (i.e., $\lambda < 1$). Similarmente, un estudio en Nueva Zelanda evidenció que el efecto negativo de *R. conicus* sobre la producción de semillas de *Carduus nutans* (sinónimo de *C. thoermeri*) no es suficiente para lograr un decrecimiento de las poblaciones de cardos (Shea & Kelly 1998). Segundo, dada la gran controversia que se generó en Norteamérica por los efectos no deseados de *R. conicus* sobre las plantas nativas (ver la sección *Controlador biológico de cardos* del CAPÍTULO 1), es acuciante hacer estudios que examinen si esto ocurre en la región sudamericana. Tercero, la baja frecuencia de *R. conicus* en los cardos muestreados (36% de las plantas) puede deberse a su reciente llegada a la región; en un trabajo de 2013 en el que se revisó la presencia de *R. conicus* en la Argentina, no se detectó dicho curculiónido en cardos del Noroeste de la Patagonia (Enrique de Briano *et al.* 2013). Por todo esto, estrategias de manejo complementarias al uso de controladores biológicos podrían ser necesarias para frenar la

invasión de *C. thoermeri*. Por ejemplo, el mantenimiento de una cobertura vegetal estable dificulta la germinación de las semillas de *C. thoermeri* (Shea & Kelly 1998) y los cortes mecánicos de los tallos de *C. thoermeri* disminuyen su densidad y crecimiento poblacional (Tipping 2008; Zhang & Shea 2019). Combinando el control biológico con alguno de los métodos anteriores, posiblemente las poblaciones de *C. thoermeri* decrezcan en el tiempo y eventualmente dicha planta invasora pueda ser erradicada.

La variabilidad climática en la cual ocurren las interacciones bióticas es clave para entender la invasión de especies en el presente y predecir qué ocurrirá en un escenario de cambio climático en el futuro (Ward & Masters 2007; Morriën *et al.* 2010; Bansal & Sheley 2016). Los λ s de *C. thoermeri* variaron fuertemente entre los periodos de estudio 2017-2019 y 2018-2020, siendo mayores durante el periodo 2018-2020 que en 2017-2019, y esto ocurrió independientemente de la ocupación de las plantas por las hormigas y *R. conicus*. Una posible explicación a dicha diferencia en los λ s es el cambio en el clima. Hubo una notable diferencia en el régimen de lluvias entre los dos periodos del estudio. En particular, en 2018-2020 las precipitaciones fueron un 53% más altas que en 2017-2019, siendo además un 47% mayores que el promedio de precipitaciones histórico. Un aumento en el régimen de precipitaciones puede alterar las interacciones directas e indirectas entre las plantas y la comunidad de insectos (Deguines *et al.* 2017). La acción mecánica de la lluvia puede ser significativa para las especies más pequeñas, como los insectos que visitan las plantas. Por ejemplo, el impacto de las gotas de lluvia desprende pulgones de las plantas y esto afecta negativamente su abundancia sobre las plantas (Kaakeh & Dutcher 1993; Rodríguez-del-Bosque *et al.* 2020). Las precipitaciones también pueden afectar el comportamiento de los insectos. Por ejemplo, la lluvia disuade a las hormigas ordeñadoras a atender a los

pulgonos (Powell *et al.* 2009). Así, un escenario lluvioso podría disminuir la abundancia de pulgonos sobre *C. thoermeri*, tanto por pérdida directa de individuos como por la menor atención –y defensa– que proveerían las hormigas ordeñadoras. Y esto podría ser favorable para la adecuación de *C. thoermeri*, ya que la abundancia de pulgonos –y su daño– sería menor. Respecto al controlador biológico *R. conicus*, las precipitaciones fuertes incrementan la mortalidad de los huevos y larvas sobre las plantas (Surlles *et al.* 1975). Esto posiblemente disminuya el efecto negativo que *R. conicus* tiene sobre la producción de semillas, y explique porqué *R. conicus* no afectó el λ de *C. thoermeri* en el periodo con mayor precipitación (2018-2020). Se predice que el cambio climático podría traer aparejado un incremento de los eventos de precipitación extremos (O’Gorman 2015). Esto podría potenciar la invasión de *C. thoermeri*, si la lluvia disminuye la abundancia de herbívoros locales sobre las plantas y, por lo tanto, disminuye la resistencia biótica local y elimina el efecto de los controladores biológicos. En resumen, el incremento de las lluvias puede afectar el proceso de invasión de especies al afectar las interacciones bióticas entre las especies exóticas y locales y esto puede ser crítico en un escenario de cambio climático.

Otros factores que afectan directamente a las plantas –y no a las interacciones bióticas sobre ellas– podrían explicar la variación interanual observadas en el crecimiento poblacional del cardo. Así, la variación en las precipitaciones también podría afectar el λ de *C. thoermeri* al impactar directamente sobre los componentes de adecuación de las plantas (i.e., supervivencia, crecimiento, reproducción). En regiones semiáridas, como el noroeste de la Patagonia, la disponibilidad de agua puede ser importante para el reclutamiento de plantas (Farji-Brener & Ghermandi 2004). La germinación y reclutamiento de *C. thoermeri* está limitada por la humedad y salinidad del sustrato (Medd & Lovett 1978; Han & Young 2013). Entonces, es de esperar que el

incremento del régimen de precipitaciones afecte positivamente el λ de *C. thoermeri* al incrementar su reclutamiento. La frecuencia y magnitud de los disturbios naturales o antrópicos, pueden afectar la adecuación y el crecimiento poblacional de las plantas, e impactar en la biodiversidad de la comunidad vegetal (Lavorel *et al.* 1994; Wiegand *et al.* 1997; Elderd & Doak 2006; Zhang & Shea 2012). En esta tesis, los sitios de muestreo se encontraban en zonas periurbanas con disturbio antrópico. Si bien los parches de cardos con los que trabajé se mantuvieron relativamente inalterados durante el estudio, las zonas aledañas sí recibieron disturbio (e.g., excavaciones, alisado de caminos, limpieza de bordes de camino), y dicho disturbio no fue homogéneo durante los cuatro años del estudio. El disturbio puede afectar el reclutamiento de rosetas de cardo al activar los bancos de semillas del suelo (Peterson-Smith & Shea 2010). También una alta intensidad de disturbio puede afectar negativamente el crecimiento y la reproducción de los cardos (Zhang & Shea 2012). Sin embargo, también se ha visto que los cardos son altamente resistentes al disturbio y esto explicaría su impresionante poder invasor (Zhang *et al.* 2011). Finalmente, el disturbio en las zonas aledañas a los parches de cardos puede afectar la biodiversidad de la comunidad, cambiar el nivel de competencia interespecífica, y esto afectar la adecuación y dinámica poblacional de los cardos (Ruggiero & Shea 2011). Entonces, la variabilidad interanual del crecimiento poblacional del cardo podría explicarse por la fluctuación de factores externos que afectan directamente la adecuación de las plantas, como los factores climáticos y el grado de disturbio natural o antrópico.

Medir el impacto de las interacciones bióticas locales sobre la dinámica poblacional de las especies exóticas es clave para comprender la invasión de especies. Esto quedó evidenciado al comparar los resultados de los modelos de adecuación con los resultados de los modelos poblacionales. Así, las hormigas ordeñadoras agresivas

afectaron negativamente la reproducción de *C. thoermeri* pero este efecto no se tradujo en un cambio significativo de las tasas de crecimiento poblacional de *C. thoermeri*. Factores como la presencia del controlador biológico *R. conicus* y los cambios en el régimen de precipitaciones, podrían ser claves para explicar la invasión de *C. thoermeri*. Combinando aproximaciones experimentales con modelos poblacionales lograremos una mejor comprensión de los efectos de las interacciones bióticas locales sobre la invasión de especies.

REFERENCIAS

- Bansal S, Sheley RL (2016) Annual grass invasion in sagebrush steppe: the relative importance of climate, soil properties and biotic interactions. *Oecologia* 181:543–557 doi:10.1007/s00442-016-3583-8
- Burns JH, Pardini EA, Schutzenhofer MR, Chung YA, Seidler KJ, Knight TM (2013) Greater sexual reproduction contributes to differences in demography of invasive plants and their noninvasive relatives. *Ecology* 94:995–1004 doi:10.1890/12-1310.1
- Caswell H (2001) *Matrix population models: construction, analysis and interpretation*, 2nd edn. Sinauer, Reino Unido
- Chalcoff VR, Lescano MN, Devegili AM (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. *Plant Ecol* 220:125–34 doi:10.1007/s11258-019-00907-2
- Deguines N, Brashares JS, Prugh LR (2017) Precipitation alters interactions in a grassland ecological community. *J Anim Ecol* 86: 262–72 doi:10.1111/1365-2656.12614
- Desrochers AM, Bain JF, Warwick SI (1988) THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS.: 89. *Carduus Nutans* L. and *Carduus Acanthoides* L. *Can J Plant Sci* 68:1053–68 doi:10.4141/cjps88-126
- Devegili AM, Alma AM, Lescano MN, Farji-Brener AG (2019) Wind matters: Asymmetric distribution of aphids on host plants can be explained by stems functioning as windbreaks. *Austral Ecol* 44:1187–95 doi:10.1111/aec.12796
- Elder BD, Doak DF (2006) Comparing the direct and community-mediated effects of disturbance on plant population dynamics: flooding, herbivory and *Mimulus guttatus*. *J Ecol* 656–669 doi:10.1111/j.1365-2745.2006.01115.x

- Elton CS (1958) *The Ecology of Invasions by Plants and Animals*. Springer, Switzerland.
- Enrique de Briano AE, Acciaresi HA, Briano JA (2013) Establishment, dispersal, and prevalence of *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae), a biological control agent of thistles, *Carduus* species (Asteraceae), in Argentina, with experimental information on its damage. *Biol Control* 67:186–93
doi:10.1016/j.biocontrol.2013.07.009
- Falcón W, Ackerman JD, Tremblay RL (2017) Quantifying how acquired interactions with native and invasive insects influence population growth rates of a non-indigenous plant. *Biol Invasions* 19:895–911 doi:10.1007/s10530-016-1318-8
- Farji-Brener AG, Ghermandi L (2004) Seedling recruitment in a semi-arid Patagonian steppe: Facilitative effects of refuse dumps of leaf-cutting ants. *J Veg Sci* 15:823–30 doi:10.1658/1100-9233(2004)015[0823:sriasp]2.0.co;2
- Ford KR, Ness JH, Bronstein JL, Morris WF (2015) The demographic consequences of mutualism: ants increase host-plant fruit production but not population growth. *Oecologia* 179:435–446 doi:10.1007/s00442-015-3341-3
- García MB, Ehrlén J (2009) Evaluación de los efectos demográficos y evolutivos de las interacciones planta-animal mediante modelos matriciales. En: Medel R, Aizen M, Zamora R (eds) *Ecología y Evolución de Interacciones Planta-Animal*. Editorial Universitaria, Chile, pp 95–111
- Gorelick N *et al.* (2017) Google Earth Engine: planetary-scale geospatial analysis for everyone. *Remote Sens Environ* 202:18–27 doi:10.1016/j.rse.2017.06.031
- van Groenendael J, de Kroon H, Caswell H (1988) Projection matrices in population biology. *Trends Ecol Evol* 3:264–269 doi:10.1016/0169-5347(88)90060-2
- Han C, Young SL (2013) Ecology of musk thistle (*Carduus nutans*) seed germination

- for grasslands of temperate climates. *Weed Sci* 61:549–556 doi:10.1614/WS-D-13-00015.1
- Jelbert K, Buss D, McDonald J, Townley S, Franco M, Stott I, ..., Silk M (2019) Demographic amplification is a predictor of invasiveness among plants. *Nat Commun* 10:1–6 doi:10.1038/s41467-019-13556-w
- Jongejans E, Skarpaas O, Shea K (2008) Dispersal, demography and spatial population models for conservation and control management. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 9:153–170 doi:10.1016/j.ppees.2007.09.005
- Kaakeh W, Dutcher JD (1993) Effect of rainfall on population abundance of aphids (Homoptera Aphididae) on pecan. *J Entomol Sci* 28:283–283 doi:10.18474/0749-8004-28.3.283
- Kuha J (2004) AIC and BIC: Comparisons of assumptions and performance. *Sociol Methods Res* 33:188–229 doi:10.1177/0049124103262065
- Lande R (1982) A quantitative genetic theory of life history evolution. *Ecology* 63:607–615 doi:10.2307/1936778
- Lavorel S, Lepart J, Debussche M, Lebreton JD, Beffy JL (1994) Small scale disturbances and the maintenance of species diversity in Mediterranean old fields. *Oikos* 455–473 doi:10.2307/3545786
- Levine JM, Adler PB, Yelenik SG (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecol Lett* 7:975–89 doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361–373 doi:10.1034/j.1600-0706.2001.950301.x
- Merow C, Dahlgren JP, Metcalf CJE, Childs DZ, Evans MEK, Jongejans E, Record S, Rees M, Salguero-Gomez R, McMahon SM (2014) Advancing population ecology

- with integral projection models: a practical guide. *Methods Ecol Evol* 5:99–110
doi:10.1111/2041-210X.12146
- Metcalf CJE, McMahon SM, Salguero-Gómez R, Jongejans E (2013) IPM pack: an R package for integral projection models. *Methods Ecol Evol* 4:195–200
doi:10.1111/2041-210x.12001
- Medd RW, Lovett JV (1978) Biological studies of *Carduus nutans* (L.) ssp. *nutans* I. Germination and light requirement of seedlings. *Weed Res* 18:363–367
doi:10.1111/j.1365-3180.1978.tb01174.x
- Mitchell CE, Agrawal AA, Bever JD, Gilbert GS, Hufbauer RA, Klironomos JN, Maron JL, ... Power AG (2006) Biotic interactions and plant invasions. *Ecol Lett* 9:726–40 doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00908.x
- Morriën E, Engelkes T, Macel M, Meisner A, Van der Putten WH (2010) Climate change and invasion by intracontinental range-expanding exotic plants: the role of biotic interactions. *Ann Bot* 105:843–848 doi:10.1093/aob/mcq064
- O’Gorman PA (2015) Precipitation extremes under climate change. *Curr Clim Change Rep* 1:49–59 doi:10.1007/s40641-015-0009-3
- Parker JD, Hay ME (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecol Lett* 8:959–67 doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00799.x
- Peterson-Smith J, Shea K (2010) Seedling emergence and early survival of *Carduus* spp. in three habitats with press and pulse disturbances. *J Torrey Bot Soc* 137:287–296 doi:10.3159/09-RA-070R1.1
- Popay AI, Medd RW (1990) The biology of Australian weeds. 21. *Carduus nutans* L. ssp. *nutans*. *Plant Protection Quarterly* 5:3–13
- Powell BE, Brightwell RJ, Silverman J (2009) Effect of an invasive and native ant on a

- field population of the black citrus aphid (Hemiptera: Aphididae). *Environ Entomol* 38:1618–1625 doi:10.1603/022.038.0614
- R Core Team (2015) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rodríguez-del-Bosque LA, Silva-Serna MM, Aranda-Lara U (2020) Effect of Natural and Simulated Rainfall and Wind on *Melanaphis sacchari* on Sorghum. *Southwest Entomol* 45:357–364 doi:10.3958/059.045.0204
- Ramula S, Knight TM, Burns JH, Buckley YM (2008) General guidelines for invasive plant management based on comparative demography of invasive and native plant populations. *J Appl Ecol* 45:1124–33 doi: 10.1111/j.1365-2664.2008.01502.x
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ, Rejmánek M (2000) Plant invasions—the role of mutualisms. *Biol Rev* 75:65–93 doi:10.1111/j.1469-185X.1999.tb00041.x
- Ruggiero DC, Shea K (2011) Effects of interspecific competition on early life history of the invasive thistles *Carduus nutans* and *C. acanthoides*. *Northeastern Naturalist* 18:197–206 doi:10.1656/045.018.0206
- Salguero-Gómez R (2017) Applications of the fast–slow continuum and reproductive strategy framework of plant life histories. *New Phytol* 213:1618–24 doi:10.1111/nph.14289
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 9:671–75 doi:10.1038/nmeth.2089
- Shea K, Kelly D (1998) Estimating biocontrol agent impact with matrix models: *Carduus nutans* in New Zealand. *Ecol Appl* 8:824–32 doi:10.1890/1051-0761(1998)008[0824:ebaiwm]2.0.co;2
- Sibly RM, Hone J (2002) Population growth rate and its determinants: an overview.

- Philos Trans R Soc B: Biol Sci 357:1153–1170 doi:10.1098/rstb.2002.1117
- Symonds MR, Moussalli A (2011) A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. Behav Ecol Sociobiol 65:13–21 doi:10.1007/s00265-010-1037-6
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. P Roy Soc B-Biol Sci 274:151–64 doi:10.1098/rspb.2006.3701
- Surles WW, Pienkowski RL, Kok LT (1975) Mortality of the immature stages of *Rhinocyllus conicus*, a thistle head weevil, in Virginia. Environ Entomol 4:371–372 doi:10.1093/ee/4.3.371
- Tipping PW (2008) Mowing-induced changes in soil seed banks and populations of plumeless thistle (*Carduus acanthoides*) and musk thistle (*Carduus nutans*). Weed Technol 22:49–55 doi:10.1614/WT-07-087.1
- Töpper JP, Meineri E, Olsen SL, Rydgren K, Skarpaas O, Vandvik V (2018) The devil is in the detail: Nonadditive and context-dependent plant population responses to increasing temperature and precipitation. Global Change Biol 24:4657–4666 doi:10.1111/gcb.14336
- Ward NL, Masters GJ (2007) Linking climate change and species invasion: an illustration using insect herbivores. Glob Change Biol 13:1605–1615 doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01399.x
- Wardle DA, Ahmed M, Nicholson KS (1991) Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants. New Zeal J Agr Res 34:185–91 doi:10.1080/00288233.1991.10423358
- White EV, Wilson JC, Clarke AR (2006) Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. Divers Distrib 12:443–55 doi:10.1111/j.1366-9516.2006.00265.x

- Wiegand T, Dean WRJ, Milton SJ (1997) Simulated plant population responses to small-scale disturbances in semi-arid shrublands. *J Veg Sci* 8:163–176
doi:10.2307/3237345
- Zhang R, Heberling JM, Haner E, Shea K (2011) Tolerance of two invasive thistles to repeated disturbance. *Ecol Res* 26:575–581 doi:10.1007/s11284-011-0816-5
- Zhang R, Shea K (2012) Integrating multiple disturbance aspects: management of an invasive thistle, *Carduus nutans*. *Ann Bot* 110:1395–1401
doi:10.1093/aob/mcr312
- Zhang R, Shea K (2019) Working smarter, not harder: objective-dependent management of an invasive thistle, *Carduus nutans*. *Invasive Plant Sci Manag* 12:155–160 doi:10.1017/inp.2019.18

APÉNDICE

Método detallado para construir los modelos de adecuación del cardo

Para modelar la demografía del cardo invasor *Carduus thoermeri*, durante 4 años marqué plantas en dos sitios (superficie total de 20600m²) y realicé censos en el tiempo. Para medir los efectos de las hormigas ordeñadoras sobre la adecuación de *C. thoermeri*, consideré los siguientes componentes de adecuación: crecimiento, supervivencia, y reproducción. Ajusté modelos lineales y no lineales de los componentes de adecuación con el tamaño de la roseta, el estado de ocupación de las hormigas o *Rhinocyllus conicus* y el año como variables explicativas (ver Tabla A4.1 en este Apéndice). Consideré al sitio de estudio como covariable. Al construir los modelos, primero determiné la mejor forma funcional para describir la relación entre cada componente de adecuación y el tamaño de la roseta, ajustando varios modelos candidatos que describían relaciones nulas, lineales o no lineales entre el tamaño de la roseta y el componente de adecuación. Los componentes de adecuación suelen tener respuestas no lineales al relacionarse a variables continuas como el tamaño, por ende, no tener en cuenta estas relaciones no lineales puede dar lugar a proyecciones erróneas de las tasas de crecimiento de la población (Dahlgren *et al.* 2011). En una primera instancia, los modelos candidatos sólo tenían el tamaño de la roseta como variable explicativa. Seleccioné los modelos con mejor ajuste según el criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio de información bayesiano (BIC) (Kuha 2004). En una segunda instancia, incorporé los efectos del estado de ocupación de las hormigas o curculiónidos, el año y el sitio con modelos en los que los parámetros eran funciones del estado de ocupación, el año, y el sitio. Consideré dos escenarios respecto a las condiciones de ocupación de las plantas por parte de hormigas: i) parche de plantas ocupadas por todo el gremio de hormigas ordeñadoras, y ii) parches de plantas ocupadas

por una sola especie de hormiga ordeñadora (i.e., *Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, o *D. richteri*). Esto me permitió evaluar tanto efectos a nivel de gremio como efectos específicos de las especies de hormigas sobre los componentes de adecuación. Todos los modelos se ajustaron en R (R Core Team 2014). Para evaluar el efecto del estado de ocupación de las hormigas sobre cada componente de adecuación, consideré que todas las plantas censadas en el primer año del estudio eran una población representativa de esta especie en este lugar. A continuación, calculé el valor esperado del componente de adecuación de cada planta de esta población (que tiene un tamaño particular que influye en el componente de adecuación) utilizando los parámetros para cada uno de los posibles estados de ocupación y los efectos medios de la parcela y el año, y luego calculé el valor medio del componente de adecuación para toda la población para cada estado de ocupación. Por último, consideré que la diferencia entre el componente de adecuación medio esperado de cada estado de ocupación en el que hay hormigas y el estado sin hormigas, es el efecto de las hormigas (o de la especie de hormiga dada) sobre el componente de adecuación. Para evaluar los efectos de las hormigas en cada uno de los componentes de adecuación, comparé las plantas en el estado sin hormigas con las plantas en cada uno de los estados con hormigas. Para esto último, realicé pruebas de hipótesis y bootstrap no paramétrico de una muestra.

Referencias

- Dahlgren JP, Garcia MB, Ehrlen J (2011) Nonlinear relationships between vital rates and state variables in demographic models. *Ecology* 92:1181-1187.
doi:10.1890/10-1184.1
- Kuha J (2004) AIC and BIC: Comparisons of assumptions and performance. *Sociol Methods Res* 33:188–229 doi:10.1177/0049124103262065
- R Core Team (2015) R: a language and environment for statistical computing. Vienna,

Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

Método detallado para construir los modelos de proyección integral

Para examinar los efectos de las hormigas ordeñadoras o *Rhinocyllus conicus* sobre la dinámica poblacional del cardo *Carduus thoermeri*, construí modelos de proyección integral (de ahora en adelante MPI). Los MPI emplean modelos de adecuación (“*vital rate models*” según Merow *et al.* 2014) con los cuales se puede comprender la dinámica poblacional de una especie. Los MPI son un tipo de modelo poblacional estructurado que es apropiado para especies en las que alguna característica del organismo (i.e., variables de estado como el tamaño) es continua e influye fuertemente en los componentes de adecuación (Merow *et al.* 2014). Los MPI modelan la contribución de los individuos con diferentes valores de la variable de estado (e.g., diferentes tamaños) a la población a través de los modelos de adecuación: supervivencia, crecimiento, y reproducción (ver “Método detallado para construir los modelos de adecuación del cardo” en este Apéndice). Mediante los MPI se puede saber si la población de una especie se encuentra en una trayectoria de aumento, disminución, o estabilidad, y conocer la contribución de los componentes de adecuación a estos cambios en la población. Los MPI representan a una población como $n(x, t)$, donde $n(x, t)dx$ es el número de individuos cuyo tamaño está en el rango $[x, x + dx]$ en el tiempo t . La función $S(x)$ es la probabilidad de supervivencia de un individuo de tamaño x y la función $G(x, y)$ es la probabilidad que un individuo de tamaño x crezca (o se reduzca) para llegar a ser de tamaño y , dado a que ha sobrevivido. La función $P(y, x)$ es igual a $S(x)G(x, y)$ y representa la probabilidad que un individuo de tamaño x en el tiempo t sobreviva al tiempo $t+1$ y pase a ser de tamaño y . La función $P(y, x)$ se llama sub-kernel de supervivencia y crecimiento del MPI. La función $F(y, x)$ es el número

esperado de nuevas plántulas de tamaño y producidas por padres de tamaño x . La función $F(y, x)$ se denomina sub-kernel de fecundidad del MPI. La función $K(y, x)$ se denomina kernel del MPI y es igual a la suma de los sub-kernels, es decir, $P(y, x) + F(y, x)$. La función $K(y, x)$ proyecta una población hacia adelante un paso de tiempo. La dinámica de la población se describe como:

$$n(y, t + 1) = \int_L^U K(y, x)n(x, t)dx,$$

con L y U representando el límite inferior (L del inglés “Lower”) y superior (U del inglés “Upper”) del rango de tamaños posibles.

Restringí el MPI para que todos los individuos de cardo permanezcan dentro del rango de tamaños $[L, U]$ y, por tanto, se contabilicen (Williams *et al.* 2012). Utilicé el tamaño de la roseta como la variable de estado que estructuró el MIP. El ciclo de vida de las plantas perennes monocárpicas como *C. thoermeri* es más complejo que otros ciclos de vida porque luego de la floración la planta se muere (Rees y Rose 2002; Rees y Ellner 2009). Distinguir la muerte debida a la floración de otras fuentes de mortalidad es importante porque la muerte relacionada con la floración tiene un efecto positivo en las poblaciones, mientras que la muerte antes de la floración tiene un efecto negativo.

Realicé un censo pre-reproductivo, en el que el sub-kernel $P(y, x)$ es igual a $S(x) * [1 - p_{flower}(x)] * G(x|y)$. Así, $P(y, x)$ tiene dos partes: una debida a la floración del cardo $p_{flower}(x)$ y otra para los individuos vegetativos $S(x)$. Modelé la distribución del tamaño de las plántulas con una distribución gaussiana. Aproximé el MPI utilizando la evaluación numérica y la regla del punto medio (Ellner y Rees 2006) dividiendo uniformemente el rango de tamaño $[L, U]$ en 200 clases de tamaño y evaluando el MPI en el punto medio de cada una de estas clases de tamaño. Construí el MPI en R (R Core Team 2014) con los paquetes IPMpack y popbio R (Stubben y Milligan 2007; Metcalf *et al.* 2013).

Referencias

- Ellner S, Rees M (2006) Integral projection models for species with complex demography. *Am Nat* 167:410–28 doi:10.1086/499438
- Merow C *et al.* (2014) Advancing population ecology with integral projection models: a practical guide. *Methods Ecol Evol* 5:99–110 doi:10.1111/2041-210X.12146
- Metcalf CJE, McMahon SM, Salguero-Gómez R, Jongejans E (2013) IPM pack: an R package for integral projection models. *Methods Ecol Evol* 4:195–200 doi:10.1111/2041-210x.12001
- R Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Rees M, Rose KE (2002) Evolution of flowering strategies in *Oenothera glazioviana*: an integral projection model approach. *P Roy Soc B-Biol Sci* 269:1509–15 doi:10.1098/rspb.2002.2037
- Rees M, Ellner SP (2009) Integral projection models for populations in temporally varying environments. *Ecol Monogr* 79:575–94 doi:10.1890/08-1474.1
- Stubben C, Milligan B (2007) Estimating and analyzing demographic models using the popbio package in R. *J Stat Softw* 22:1–23 doi:10.18637/jss.v022.i11
- Williams JL, Miller TEX, Ellner SP (2012) Avoiding unintentional eviction from integral projection models. *Ecology* 93:2008–14 doi:10.1890/11-2147.1

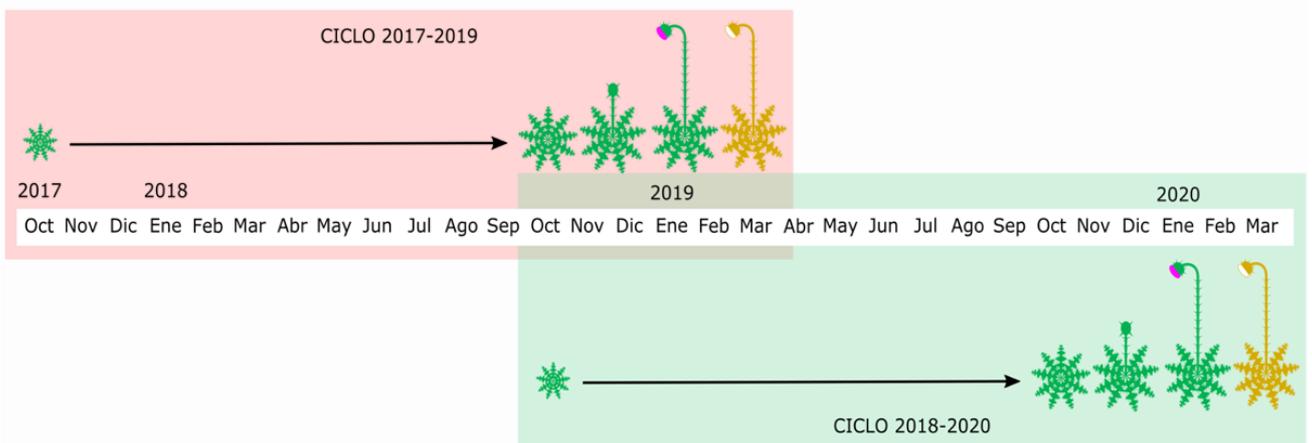


FIG. A4.1 Ciclo de vida bienal del cardo *Carduus thoermeri*. Se ilustran dos periodos de dos años comprendidos en el estudio. El periodo 2017-2019 es el primer ciclo de vida de *C. thoermeri* en mi estudio (recuadro rojo) y el periodo 2018-2020 es el segundo ciclo de vida de *C. thoermeri* en mi estudio (recuadro verde). Las rosetas crecen cerca de un año (de octubre a octubre). Luego en noviembre se inicia la fase reproductiva que culmina con la dispersión de semillas hacia enero-febrero. Luego de la dispersión de las semillas, las plantas entran en fase de senescencia hacia marzo.

TABLA A4.1 Modelos de mejor ajuste para los componentes de adecuación del cardo *Carduus thoermeri*

Componente de adecuación	Función	Error de la distribución
Supervivencia	<i>Logística:</i> $y = e^{\alpha+\beta x} / (1 + e^{\alpha+\beta x})$	Binomial
Crecimiento	<i>Lineal:</i> $y = \alpha + \beta x$	Gaussiano
Probabilidad de floración	<i>Logística:</i> $y = 1 / (1 + e^{(\alpha(x-\beta))})$	Binomial
Número de semillas	<i>Exponencial:</i> $y = e^{\alpha+\beta x}$	Binomial Negativo

Para todas las funciones, x es el tamaño de la roseta del cardo. Las letras griegas son parámetros en los que consideré el estado de ocupación de las hormigas, el controlador biológico *R. conicus*, los periodos de estudio, y el sitio de estudio

TABLA A4.2 Precipitación, temperatura, y velocidad del viento para el periodo 2010-2020 en la zona de estudio. Los datos se presentan para el período de 10 años (2010-2020) y para los periodos de 18 meses de vida de *C. thoermeri* (ver Fig. A4.1). Para facilitar la interpretación de los datos de *C. thoermeri*, estos se presentan en periodos de 2 años. El estudio cubre los últimos dos periodos de la tabla: 2017-2019 y 2018-2020 (destacados en negrita). Los datos de temperatura y velocidad del viento son de la estación meteorológica SAZS, S. C. de Bariloche (41°09'04"S 71°09'27"O) y fueron recopilados de la base de datos de www.weatherunderground.com. Los datos de precipitación fueron recopilados de la base de datos de www.worldweatheronline.com

Periodos	Factor Abiótico (FA)		
	Precipitación (mm)*	Temperatura (°C)*	Velocidad del viento (km/h)*
10 años			
2010-2020	51.2	7.8	13.3
2 años (ciclo de vida del cardo)			
2010-2012	53.0	7.5	12.0
2011-2013	52.7	8.1	12.9
2012-2014	56.0	7.7	13.1
2013-2015	52.3	7.5	12.8
2014-2016	47.1	7.8	13.3
2015-2017	30.5	8.0	12.7
2016-2018	43.9	7.9	14.4
2017-2019	49.3	7.9	14.4
cambio histórico **	-4%	+1%	+8%
2018-2020	75.2	7.7	13.9
cambio histórico **	+47%	-1%	+4%
cambio en el estudio ***	+53%	-2%	-3%

*Promedio del promedio mensual. Para la precipitación, los promedios se calculan a partir de la precipitación acumulada en un mes. Para la temperatura y la velocidad del viento, los promedios se calculan a partir de las temperaturas medias diarias y las velocidades medias diarias del viento, respectivamente.

** cambio histórico = $[(FA_{estudio} - FA_{2010-2020}) / FA_{2010-2020}] \times 100$, donde FA representa a los Factores Abióticos: precipitación, temperatura, o viento. $FA_{estudio}$ es el Factor Abiótico en 2017-2019 o 2018-2020, y $FA_{2010-2020}$ es el Factor Abiótico en 2010-2020.

*** cambio en el estudio = $[(FA_{2018-2020} - FA_{2017-2019}) / FA_{2017-2019}] \times 100$, donde FA representa a los Factores Abióticos: precipitación, temperatura, o viento. $FA_{2018-2020}$ es el Factor Abiótico en 2018-2020 y $FA_{2017-2019}$ es el Factor Abiótico en 2017-2019.

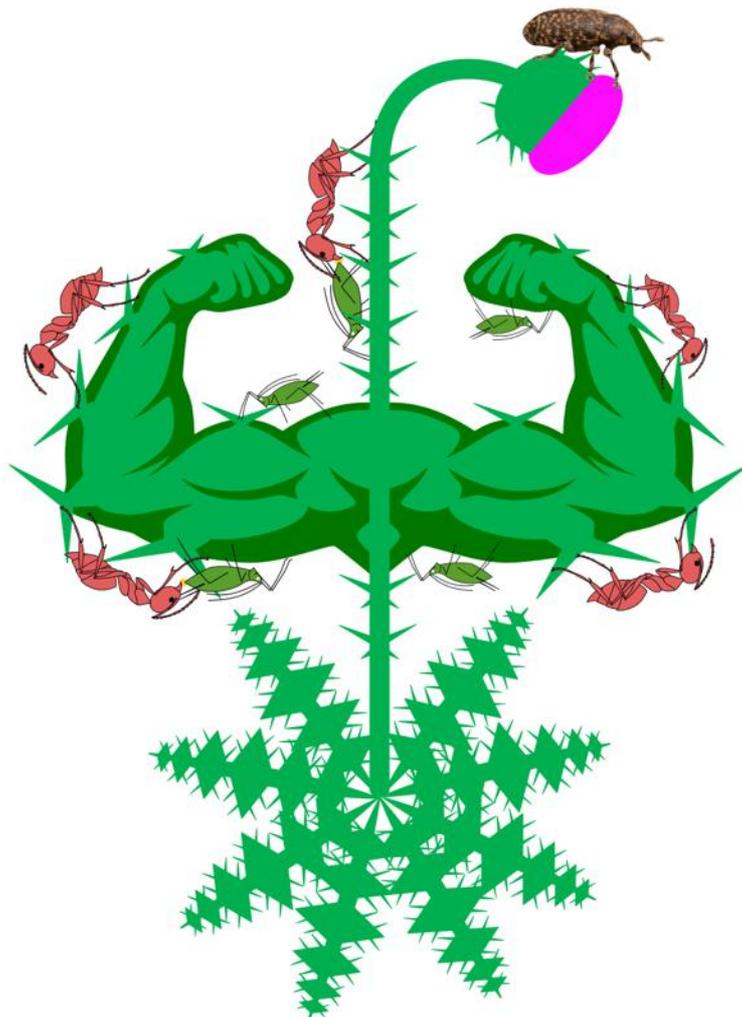
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO 2 – FOCO EN LAS HORMIGAS Y PULGONES

CAPITULO 3 – FOCO EN LA ADECUACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 4 – FOCO EN LA POBLACIÓN DE LA PLANTA EXÓTICA

CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN GENERAL



HORMIGAS ORDEÑADORAS: LA AGRESIVIDAD Y ABUNDANCIA IMPORTAN

A pesar de su pequeño tamaño, las hormigas ordeñadoras pueden tener grandes efectos sobre la estructura de las comunidades y funcionalidad de los ecosistemas (Crutsinger & Sanders 2005; Eubanks & Styrsky 2006; Clark *et al.* 2019). Sin embargo, una o unas pocas especies de hormigas son las que, por lo general, desencadenan efectos significativos sobre las comunidades y ecosistemas (e.g., Clark & Singer 2018). La variación en la agresividad y abundancia de las especies de hormigas puede explicar por qué algunas especies son ecológicamente más importantes que otras (e.g., Del-Claro & Oliveira 2000; Ness 2006). Cuando una especie reúne dominancia comportamental y numérica (i.e., alta agresividad y abundancia), se le atribuye comúnmente dominancia ecológica (Lach *et al.* 2010). Respecto a la agresividad en el gremio de hormigas ordeñadoras, es esperable que las especies agresivas sean más beneficiosas para los pulgones que las especies menos agresivas, ya que las especies agresivas ahuyentaran en mayor medida a los enemigos de los pulgones y, por ende, aumentarán la supervivencia de los pulgones. A su vez, al patrullar las plantas en búsqueda de pulgones, las hormigas más agresivas tenderán a ahuyentar a otros visitantes de las plantas, sean estos antagonistas o mutualistas (e.g., herbívoros o polinizadores). Un razonamiento similar puede hacerse sobre la abundancia de hormigas ordeñadoras. Las especies más abundantes tienen mayor probabilidad de encontrar intrusos sobre la planta hospedera por el hecho de contar con más cantidad de obreras patrullando. Además, al reclutar mayor cantidad de obreras, es esperable que las especies abundantes repelan a los enemigos de los pulgones y otros visitantes de las plantas con mayor facilidad que aquellas especies menos abundantes. Así, las hormigas ordeñadoras más agresivas y abundantes serán probablemente las que desencadenen mayor cantidad de

efectos directos e indirectos sobre las plantas y comunidad de artrópodos asociadas a las plantas.

Acorde a esto, la especie de hormiga más agresiva y abundante del ensamble de ordeñadoras estudiado aquí fue la que presentó mayor cantidad de efectos significativos sobre la comunidad. Evidencié que las especies de hormigas asociadas a los cardos tienen grandes diferencias en cuanto a su agresividad y abundancia sobre las plantas en las que buscan pulgones. Demostré que la hormiga más agresiva y abundante, *Dorymyrmex tener*, es la única especie que tiene efectos sobre la comunidad de insectos sobre los cardos (pulgones, mariquitas, y larvas de sírfido). Esto fue tanto por el efecto directo de las hormigas sobre los depredadores de pulgones (mariquitas y larvas de sírfido) como por el efecto indirecto que implicó dicha defensa sobre las poblaciones de pulgones. A su vez, *D. tener* afectó indirectamente la reproducción del cardo *Carduus thoermeri*. Solo las hormigas agresivas y abundantes establecieron una relación mutualista con los pulgones (i.e., defensa de las hormigas a cambio de melaza). Así, la agresividad y abundancia son características claves para entender la relevancia ecológica de las hormigas ordeñadoras en la comunidad (Fig. 5.1).

Finalmente, las hormigas ordeñadoras agresivas solo afectaron la adecuación de los pulgones al ahuyentar a sus depredadores naturales, mientras que no afectaron la abundancia de curculiónidos en las inflorescencias (Fig. 5.1). Esto apoya la idea de que las hormigas ordeñadoras no afectan a todos los insectos de las plantas por igual; siendo su efecto mayor sobre aquellos insectos que están directamente relacionados a los pulgones (e.g., depredadores de pulgones), y menor –o nulo– sobre aquellos insectos que no están directamente relacionados a los pulgones (e.g., curculiónidos y otros herbívoros) (Altfeld & Stiling 2006).

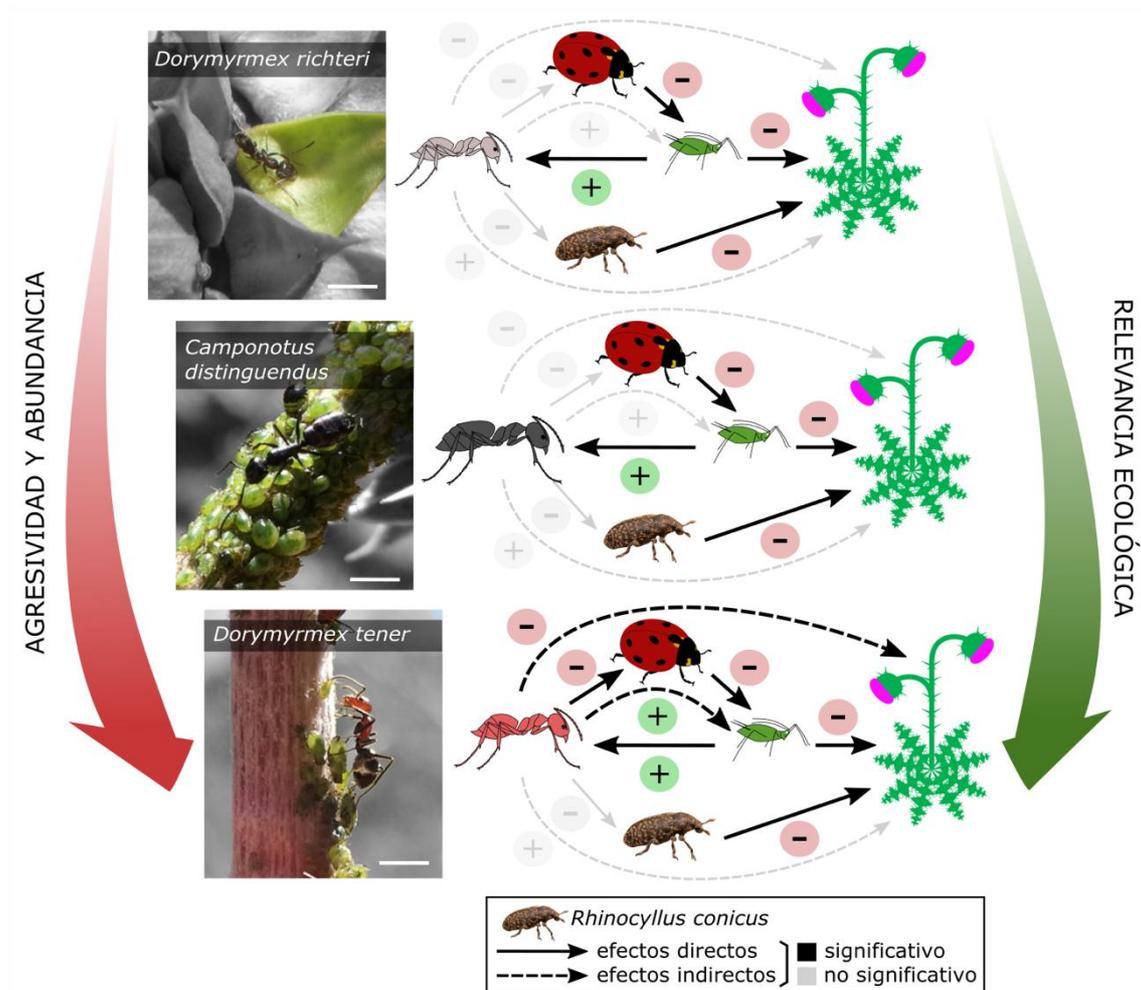


FIG. 5.1 La agresividad y abundancia de hormigas ordeñadoras determina su relevancia ecológica. Caractericé la agresividad y determiné la abundancia de un ensamble de hormigas ordeñadoras nativo. Determiné que *Dorymyrmex tener* es la especie más agresiva y abundante del ensamble. Paralelamente, determiné los efectos directos e indirectos de las hormigas ordeñadoras sobre la comunidad de artrópodos del cardo *Carduus thoermeri* y los efectos indirectos de las hormigas sobre las plantas. La relevancia ecológica es la cantidad de efectos directos e indirectos de las hormigas en la comunidad. Así, a mayor cantidad de efectos directos e indirectos, mayor la relevancia ecológica de la especie de hormiga. Para más detalles de la agresividad y abundancia de las hormigas ordeñadoras ver CAPÍTULO 2 y 3. Para más detalles de los efectos directos e indirectos de las hormigas ordeñadoras ver CAPÍTULO 3.

EFFECTOS INDIRECTOS DE LAS HORMIGAS ORDEÑADORAS SOBRE LAS PLANTAS EXÓTICAS

El papel de los efectos indirectos entre especies nativas y exóticas sobre la invasión de especies ha sido subvalorado en la ecología de invasiones biológicas (White *et al.* 2006; Ricciardi *et al.* 2013). Las hormigas ordeñadoras pueden afectar a las plantas hospederas por vías indirectas que implican a pulgones, herbívoros no-pulgón, y

polinizadores (Styrsky & Eubanks 2007; Ibarra-Isassi & Oliveira 2018; LeVan & Holway 2015). Se desconoce si los efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras influyen tanto en la adecuación como en la invasión de plantas exóticas. Combinando conceptos de ecología de hormigas e invasiones biológicas, enuncié hipótesis que examinan vías indirectas por las cuales las hormigas ordeñadoras pueden afectar a las plantas exóticas (Fig. 5.2). Mis resultados muestran que las hormigas ordeñadoras nativas desencadenan efectos indirectos sobre la adecuación de los cardos. La hormiga ordeñadora *D. tener* reduce la adecuación de *C. thoermeri* al incrementar el daño generado por los pulgones. A dicho efecto indirecto lo denominé “Resistencia biótica indirecta” en alusión al efecto modulador que una tercera especie puede tener sobre el mecanismo de Resistencia biótica (Elton 1958; Fig. 5.2a). La agresividad y abundancia de las especies de hormigas fueron caracteres relevantes en la “Resistencia biótica indirecta”. Así, solo la especie agresiva y abundante *D. tener* apoyó la “Resistencia biótica indirecta”, mientras que las especies de hormigas menos agresivas y abundantes no afectaron la adecuación de *C. thoermeri*. Paralelamente, demostré que las hormigas ordeñadoras no incrementaron la adecuación de *C. thoermeri* por la vía indirecta que incluye al controlador biológico *R. conicus*. A esta vía la denominé “Facilitación biótica indirecta” en alusión al incremento de la adecuación de *C. thoermeri* que implicaría la expulsión de *R. conicus* por parte de las hormigas (Fig. 5.2b). Las hormigas ordeñadoras podrían afectar indirectamente a las plantas exóticas al expulsar sus polinizadores. Al privar a las plantas de polinizadores, las hormigas pueden disminuir la fecundación de las plantas y conferir “Resistencia biótica indirecta” (Fig. 5.2c). Como el sistema de reproducción de *C. thoermeri* es autocompatible (Chalcoff *et al.* 2019) y las hormigas ordeñadoras usualmente no frecuentan las inflorescencias de *C. thoermeri*, no puse a prueba a este último mecanismo. En resumen, evidencié que las hormigas ordeñadoras

nativas desencadenan efectos indirectos sobre la adecuación de las plantas exóticas y dichos efectos podrían ser relevantes en la invasión de plantas. Aún así, es importante destacar que dichos efectos de las hormigas no garantizan que haya efectos en el nivel poblacional de la planta huésped (e.g., Ford *et al.* 2015), por lo que es clave realizar estudios poblacionales para determinar si las hormigas afectan el proceso de invasión.

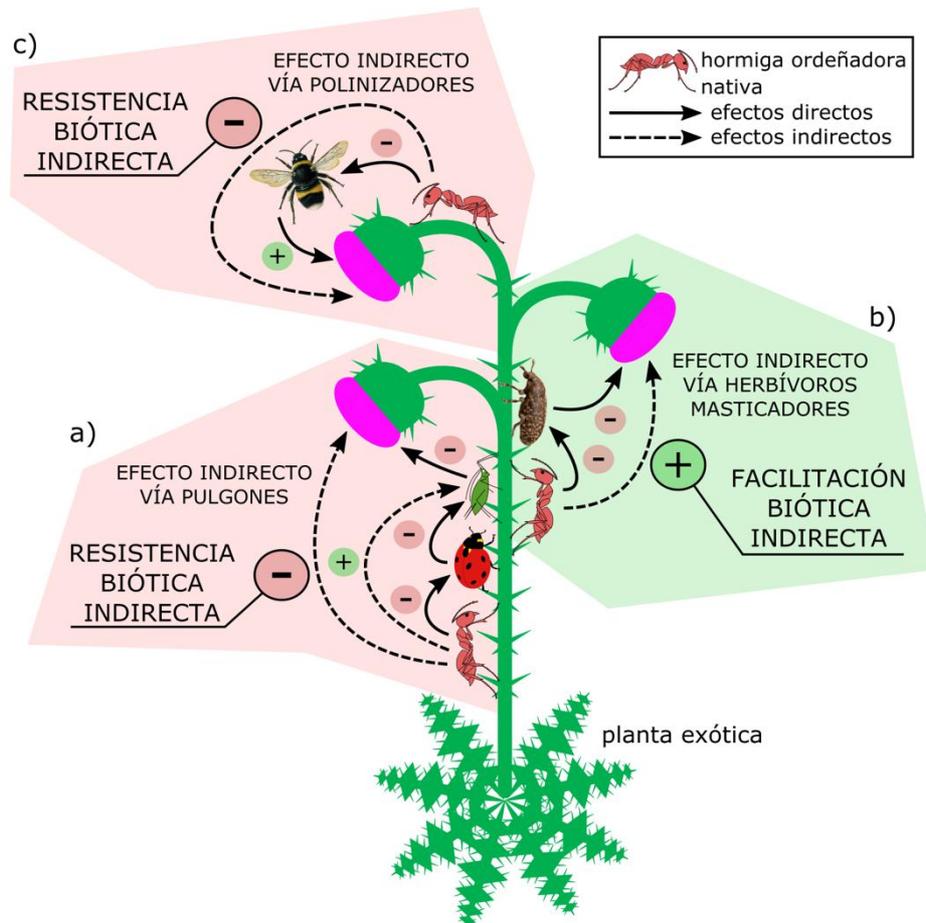


FIG. 5.2 Efectos indirectos de las hormigas ordeñadoras sobre las plantas hospederas y su relación con los mecanismos de invasión de plantas. a) Efecto indirecto vía pulgones: las hormigas defienden a los pulgones de sus enemigos naturales lo que incrementa la abundancia y daño de los pulgones sobre la planta exótica. El resultado de esta vía es negativo para la adecuación de la planta exótica y apoya la hipótesis de “Resistencia biótica indirecta” a la invasión de plantas. b) Efecto indirecto vía herbívoros masticadores: al patrullar las plantas en búsqueda de la melaza de los pulgones, las hormigas expulsan a los herbívoros masticadores de la planta. El resultado de esta vía es positivo para la adecuación de la planta exótica y apoya la hipótesis de “Facilitación biótica indirecta” a la invasión de plantas. c) Efecto indirecto vía polinizadores: al patrullar la planta en búsqueda de la melaza de los pulgones, las hormigas expulsan y disuaden a los polinizadores. La reducción de la visita de los polinizadores disminuye la fecundación de los óvulos y producción de semillas. El resultado de esta vía es negativo para la adecuación de la planta exótica y apoya la hipótesis de “Resistencia biótica indirecta” a la invasión de plantas. Las hipótesis en a) y b) fueron examinadas en esta

tesis, mientras que la hipótesis en c) no fue examinada ya que el cardo es autocompatible y las hormigas usualmente no patrullan las flores sobre la inflorescencia. Para más detalles de las hipótesis a) y b) en el sistema de hormigas ordeñadoras y cardos, ver el CAPÍTULO 3.

LA IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS POBLACIONALES EN LA ECOLOGÍA DE INVASIONES

Las invasiones biológicas son fenómenos principalmente poblacionales (Ramula *et al.* 2008; Burns *et al.* 2013; Jelbert *et al.* 2019), por lo que es crítico examinar la dinámica poblacional de las especies invasoras para entender qué factores potencian o disminuyen la invasión. Concluir que una interacción afecta la invasión de una especie en base a efectos sobre componentes de adecuación aislados (e.g., reproducción) puede ser un error. Por ejemplo, el efecto positivo de las hormigas sobre la producción de frutos del cactus *Ferocactus wislizeni* no provocó efectos biológicamente significativos en el nivel poblacional del cactus (Ford *et al.* 2015). Los modelos poblacionales nos ofrecen la posibilidad de sintetizar la compleja y variada información del ciclo vital de una especie en parámetros simples como la tasa de crecimiento poblacional (λ), que determinan la dirección final del sistema. Además, la sensibilidad y elasticidad indican la contribución de los componentes de adecuación sobre el λ y nos permiten entender porqué los factores externos afectan –o no afectan– a la dinámica poblacional de una especie (Benton & Grant 1999; García & Ehrlén 2009). Por ello, si queremos lograr un entendimiento más profundo sobre las invasiones biológicas, es clave que los análisis poblacionales ganen mayor presencia en los estudios sobre invasiones.

Esta tesis es un claro ejemplo sobre la importancia de examinar una pregunta de ecología a una escala individual y poblacional. Así, a una escala individual, mostré que las hormigas ordeñadoras afectan negativa e indirectamente la reproducción del cardo *C. thoermeri*. Pero, a una escala poblacional, encontré que las hormigas no afectan el λ de *C. thoermeri*. La ausencia de efecto de las hormigas ordeñadoras en el λ de *C.*

thoermeri podría deberse a que su efecto sobre el componente de adecuación reproductivo no es lo suficientemente fuerte para impactar sobre la dinámica poblacional de la planta. El cardo *C. thoermeri* puede producir una gran cantidad de semillas por inflorescencia (he llegado a contar hasta ~800 semillas en una inflorescencia) y las plantas pueden sustentar hasta 30 inflorescencias; por lo que una planta podría producir hasta ~24000 semillas (i.e., $800 \frac{\text{semillas}}{\text{inflorescencia}} \times 30 \frac{\text{inflorescencias}}{\text{planta}} = 24000 \frac{\text{semillas}}{\text{planta}}$). Este alto potencial reproductivo también fue evidenciado en otros estudios con cardos (Farji-Brener & Ghermandi 2008; Chalcoff *et al.* 2019). Los cardos además forman bancos de semillas y los bancos de semillas no son afectados por la actividad de las hormigas ordeñadoras, al menos de forma directa. El controlador biológico *R. conicus* sí tuvo un efecto negativo sobre el λ de *C. thoermeri*. La magnitud del efecto de *R. conicus* sobre el componente de adecuación reproductivo de *C. thoermeri* fue un 37% mayor que el efecto de la hormiga *D. tener*, lo cual podría explicar porqué, a diferencia de las hormigas, *R. conicus* sí afectó negativamente el λ de *C. thoermeri* (Fig. 5.3). Dado a que el parámetro λ puede ser empleado para caracterizar el poder de invasión de una especie, concluí que las hormigas ordeñadoras no afectan la invasión de *C. thoermeri*, mientras que el controlador biológico *R. conicus* mitiga la invasión de *C. thoermeri*. El contexto abiótico también podría modular la invasión de *C. thoermeri*. Así, sugerí que la variación del λ de *C. thoermeri* entre periodos podría deberse a cambios en los regímenes de precipitación (Fig. 5.3). En resumen, los estudios poblacionales son herramientas claves en ecología de invasiones porque nos permiten evaluar e integrar la influencia de factores bióticos y abióticos sobre la dinámica poblacional de las especies exóticas.

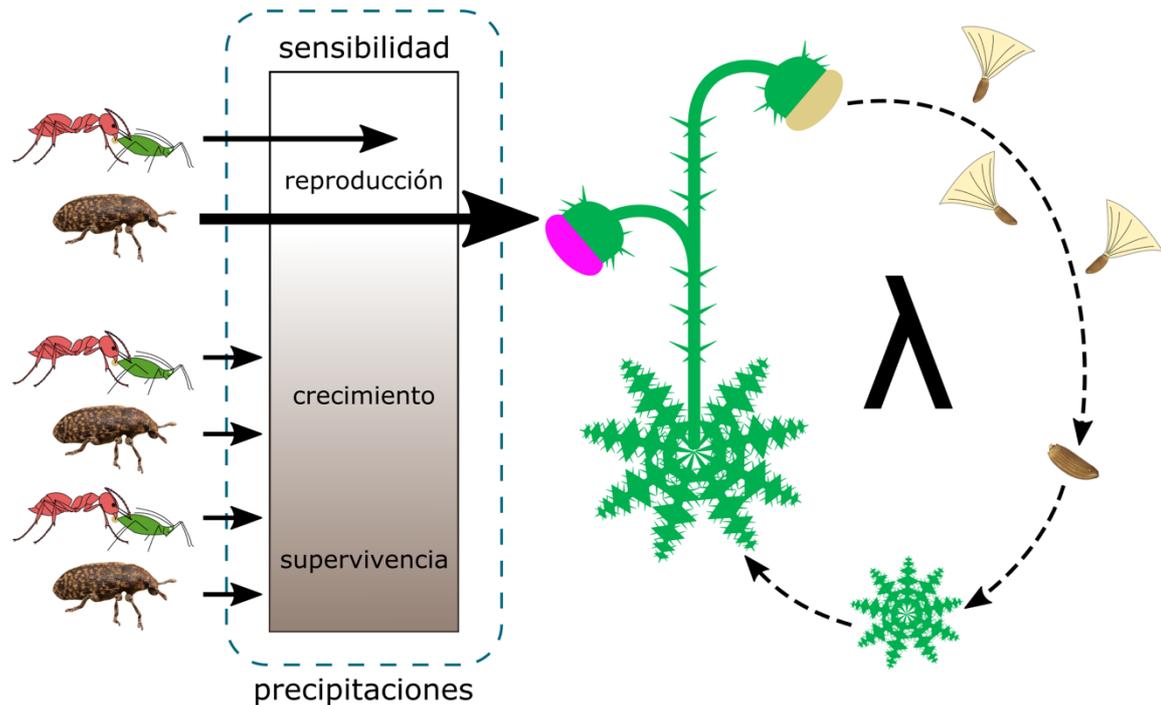


FIG. 5.3 Esquema teórico de las interacciones entre insectos y el cardo *Carduus thoermeri* y sus efectos a nivel de la población de *C. thoermeri*. Se muestran los efectos de la interacción de *C. thoermeri* con el controlador biológico de cardos *Rhinocyllus conicus* y con la hormiga ordeñadora de pulgones *Dorymyrmex tener*. La sensibilidad de *C. thoermeri* a los cambios en los componentes de adecuación está representada mediante un filtro clarescuro, donde los colores oscuros indican baja sensibilidad y los colores claros indican alta sensibilidad. Las flechas son los efectos de cada interacción sobre los componentes de adecuación. El grosor de la flecha indica la magnitud del efecto. Así, los efectos poblacionales importantes pueden verse en las flechas sobre fondo blanco, y los poco trascendentes en flechas sobre fondo oscuro. El λ , o tasa de crecimiento poblacional, es el parámetro integrador que evalúa la importancia de cada interacción sobre la invasión de *C. thoermeri*. El recuadro de líneas discontinuas indica que las precipitaciones pueden modificar la magnitud de los efectos de las interacciones y la matriz de sensibilidad de *C. thoermeri*. Para más detalles del efecto de las hormigas y *R. conicus* sobre el componente reproductivo de *C. thoermeri*, ver el CAPÍTULO 3. Para más detalles de los efectos de las hormigas y *R. conicus* sobre los componentes de adecuación y dinámica poblacional de *C. thoermeri*, ver el CAPÍTULO 4.

LA INVASIÓN DEL CARDO EN UN MARCO GLOBAL

El cardo *C. thoermeri* ha sido un modelo excelente para examinar hipótesis sobre invasión de especies. Su rápido crecimiento, alto poder reproductivo, y capacidad de formar bancos de semillas, lo hacen una maleza ideal (*ideal-weed Hypothesis*; Baker 1965). Ha invadido con rapidez a Estados Unidos, Canadá, Australia, y Nueva Zelanda (Jongejans *et al.* 2008); y sus poblaciones se encuentran en pleno crecimiento en dichos

territorios (Tabla 5.1). Aquí evidenció que Argentina no es la excepción a la regla. En el NO de la Patagonia, las poblaciones de *C. thoermeri* se encuentran creciendo a tasas similares a las observadas en otros territorios invadidos (Tabla 5.1). Notablemente, las poblaciones de *C. thoermeri* decrecen en su distribución nativa (Tabla 5.1), sugiriendo que factores allí presentes –y ausentes en la distribución invadida– pueden ser claves para explicar el éxito de invasión del cardo. La hipótesis del escape de enemigos (*enemy-release hypothesis*; Maron & Vilà 2001) afirma que las especies invasoras tienen éxito porque dejaron atrás sus enemigos naturales coevolucionados. De esta hipótesis deriva la idea de introducir controladores biológicos para manejar a las especies exóticas. Así, la introducción del controlador biológico *R. conicus* en Argentina se pensó que contendría la invasión de *C. thoermeri*. Sin embargo, *R. conicus* ha demostrado no ser capaz de suprimir a *C. thoermeri* en su rango invadido; esto es así tanto en el NO de la Patagonia, donde *R. conicus* baja levemente el λ de *C. thoermeri* (datos de esta tesis), como en otros países (Shea & Kelly 1998).

TABLA 5.1 Comparaciones de las tasas de crecimiento poblacional (λ) del cardo *C. thoermeri* en rangos invadidos vs. nativos. Los λ s indican si las poblaciones se encuentran decreciendo ($\lambda < 1$), estables ($\lambda = 1$), o creciendo ($\lambda > 1$).

	Rangos invadidos				Rango nativo
	USA, Kansas ¹	Australia, Kybayan ¹	Nueva Zelanda, Midland ¹	Argentina, Bariloche ²	Francia, La Cavalerie ¹
λ	1.74	1.20	2.68	1.54	0.60

¹ datos de Jongejans *et al.* (2008)

² rango invadido estudiado en la presente tesis. El λ es el promedio de los λ s en Fig. 4.4

Para que una planta se torne invasora, esta debe ser capaz de resistir a los antagonistas locales y de adaptarse a las condiciones del medio. Aquí demostré que los pulgones y hormigas ordeñadoras nativas son antagonistas de *C. thoermeri* porque reducen su adecuación (proporción de semillas viables), sin embargo, esto no se traduce en un impacto negativo sobre el crecimiento poblacional de *C. thoermeri*. Así, la

resistencia biótica por parte de la insectofauna local parece no limitar la invasión de *C. thoermeri*. Las plantas locales, al competir por recursos, también podrían resistir la invasión de *C. thoermeri* (Wardle *et al.* 1995). *Carduus thoermeri* es además una hierba ruderal; el disturbio natural y/o antrópico al reducir la competencia de las plantas locales, liberar recursos, y promover el enterramiento de las semillas, es clave para su establecimiento, crecimiento, reproducción (Rauschert & Shea 2012). Así, mantener los ecosistemas naturales y semi-urbanos saludables y con un bajo nivel de disturbios, posiblemente sea una buena estrategia para frenar la expansión de esta maleza exótica.

FUTURAS DIRECCIONES

El servicio de defensa es solo uno de varios tipos de servicios que las hormigas proveen a los pulgones. Las hormigas ordeñadoras ofrecen servicio de transporte de pulgones. Las hormigas trasladan pulgones asegurándose que forrajeen en las zonas más nutritivas de las plantas, y además el traslado aumenta la dispersión de los pulgones e infestación de nuevas plantas (Way 1963; Collins & Leather 2002). Las hormigas ordeñadoras ofrecen servicios de limpieza. Al consumir la melaza de los pulgones las hormigas impiden el desarrollo de hongos entomopatógenos (Banks 1958; Rhainds & Messing 2005). Las hormigas ordeñadoras ofrecen servicios funerarios. Las hormigas quitan los cadáveres de los pulgones evitando que se propaguen enfermedades entre los pulgones (Nielsen *et al.* 2010). En mi sistema de estudio me enfoqué en el servicio de defensa y demostré que este servicio es importante para los pulgones, pero esto no invalida que las hormigas también hayan favorecido a los pulgones mediante otro servicio. En el campo observé en repetidas ocasiones a hormigas *D. tener* cargando pulgones en sus mandíbulas; pulgones que estaban en algunas ocasiones vivos y en otras muertos. Esto lo observé tanto en hormigas sobre las plantas como sobre el suelo. Posiblemente las

hormigas transporten pulgones entre plantas para lograr ubicarlos en mejores sitios o para infestar “deliberadamente” plantas sin pulgones y asegurarse una mayor cantidad de melaza a futuro. Los pulgones transportados muertos tal vez sean indicio del servicio funerario de las hormigas, aunque no puede descartarse que las hormigas se encontrasen depredando pulgones (Sakata 1995). Los cardos con una alta abundancia de pulgones suelen tener acumulación de melaza sobre los tallos y hojas cuando no son visitados por hormigas. Mientras que la melaza no se acumula –o disminuye considerablemente– cuando las plantas son visitadas por hormigas. Este patrón podría explicarse por el servicio de limpieza. Resta comprobar si el exceso de melaza es perjudicial para las plantas y pulgones. Comprender los efectos positivos y negativos que tienen las hormigas ordeñadoras sobre los pulgones y medir su contribución relativa sobre las tasas de crecimiento poblacional de los pulgones, es importante tanto desde un punto de vista teórico (i.e., comprender el papel que tienen las hormigas ordeñadoras sobre las comunidades de insectos) como desde un punto de vista práctico (i.e., comprender el papel que tienen las hormigas ordeñadoras en sistemas artificiales, como huertas y sistemas agrícolas).

Parte de la importancia ecológica de las hormigas ordeñadoras radica en la gran cantidad de efectos directos e indirectos que pueden tener sobre la comunidad de artrópodos y plantas de la comunidad (Styrsky & Eubanks 2007; Clark *et al.* 2019). Si bien el objetivo de esta tesis fue examinar los efectos indirectos de las hormigas sobre las plantas exóticas, las hormigas también afectan a la comunidad de insectos de los cardos, tanto por vías directas e indirectas. La hormiga *D. tener* expulsa de los cardos a mariquitas y larvas de sírfido. Y con ello afecta indirectamente la abundancia de pulgones sobre los cardos (ver CAPÍTULO 2). Sin embargo, hubo una especie de mariquita (*Cycloneda germainii*, de 4 especies testeadas) y un tamaño de larva de

sírfido ('tamaño grande', de 3 tamaños testeados) que no fueron expulsados con éxito por *D. tener* (Fig. 2.3 en CAPÍTULO 2). Las especies de mariquitas y larvas de sírfidos no expulsadas por las hormigas podrían tener grandes beneficios al poder forrajear pulgones en un escenario libre de competencia y poder alimentarse de una mayor cantidad de pulgones. Las hormigas ordeñadoras también pueden afectar a las poblaciones de pulgones al disminuir la tasa de parasitismo de los pulgones. Las avispas parasitoides (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) ponen un huevo en el interior del pulgón; la larva emergente consume los tejidos del hospedador, y luego teje un capullo y pupa en el interior del pulgón muerto, cuyo exoesqueleto se endurece y adquiere un color marrón (momia). Las momias permanecen en la planta y son fácilmente identificables en algunas especies de pulgones, por lo que se han utilizado con éxito para estimar las tasas de parasitismo. En *C. thoermeri*, la actividad de las hormigas ordeñadoras es mayor y la tasa de parasitismo es menor cuando las plantas crecen en suelos enriquecidos de nutrientes que cuando lo hacen en suelos no enriquecidos (Lescano *et al.* 2012). Esto sugeriría que las hormigas ordeñadoras están ahuyentando a los parasitoides y disminuyendo el parasitismo de los pulgones. Pero son necesarios más experimentos para entender si es el incremento en la abundancia de hormigas –y no un incremento en las defensas de los pulgones consecuencia indirecta del enriquecimiento del suelo– lo que afecta la tasa de parasitismo de los pulgones. En resumen, las hormigas ordeñadoras podrían afectar la composición y abundancia de especies del gremio de enemigos de pulgones.

Las especies depredadoras de pulgones difieren en sus estrategias de forrajeo y defensa frente a las hormigas, y esto podría ser importante para explicar la composición del gremio de depredadores de pulgones en los parches de plantas con hormigas ordeñadoras. Por un lado, las mariquitas adultas son activas en su búsqueda de

pulgonos, viéndoselas con frecuencia caminar grandes distancias sobre una misma planta y cruzar de una planta a otra. Por otro lado, las larvas tienen movimientos lentos y generalmente permanecen en una misma planta. Los mecanismos de defensa de las mariquitas y larvas de sírfido frente al ataque de las hormigas son también diferentes. Los adultos y larvas de mariquita por lo general huyen o se arrojan de las plantas cuando se sienten amenazadas. En caso de no poder huir expulsan una sustancia amarillenta que disuade momentáneamente a los atacantes. Las larvas de sírfido cuando son atacadas por otros insectos se tuercen sobre sí mismas y expulsan de su boca una gota que depositan sobre el atacante (Rotheray 1986). Esta sustancia pegotea los miembros del atacante dificultándole su movimiento (Iakovlev & Reznikova 2019; Detrain *et al.* 2017). Mostré que las larvas de sírfido grandes permanecen sobre las plantas con hormigas, mientras que las larvas de tamaño medio o pequeño son expulsadas con éxito por las hormigas. Posiblemente las larvas de sírfido grandes expulsan más cantidad de esta sustancia pegajosa que las larvas de tamaño mediano o pequeño. Así, observé a larvas de sírfido grandes dejar fuera de combate a ~15 hormigas ordeñadoras, mientras que las larvas medianas o pequeñas eran rápidamente removidas por las hormigas. La sustancia pegajosa podría tener además algún compuesto irritante o neurotóxico, explicando su eficacia contra las hormigas (Detrain *et al.* 2017). Finalmente, el costo de “caer” de una planta a causa de las hormigas debe ser diferente para una mariquita adulta que para una larva de sírfido o mariquita. Cuando una mariquita adulta cae al suelo esta puede rápidamente resguardarse en la vegetación contigua, evitando la exposición a los depredadores del suelo y a las altas temperaturas del suelo (en la estepa patagónica puede alcanzar los ~50 °C en verano). Cuando una larva de sírfido o larva de mariquita cae al suelo estas se encuentran en un gran riesgo. Sus lentos movimientos implican lentos desplazamientos y una mayor

exposición a los depredadores del suelo y a las altas temperatura del suelo. Además, sus cuerpos blandos hacen a las larvas más vulnerables a las caídas. Comprender si las hormigas ordeñadoras tienen efectos diferenciales sobre los depredadores de pulgones nos permitirá comprender cómo se estructuran las comunidades de insectos sobre las plantas.

Para comprender el porqué de los efectos –o ausencia de efectos– de los insectos sobre el λ de *C. thoermeri*, se pueden realizar una serie de análisis complementarios. Los “experimentos de respuesta de la tabla de vida” (ERTV; LTRE, del inglés “Life table response experiment”) (Caswell 2001) modificados para su uso con modelos de proyección integral (MPI) (Ellner & Rees 2006), cuantifican cuánto de la diferencia del λ entre las poblaciones de *C. thoermeri* sin/con insectos es atribuible a las diferencias en cada uno de los componentes de adecuación subyacentes. Además, los MPI pueden ser proyectados sobre un paisaje para producir un mapa de idoneidad de hábitat (Merow *et al.* 2014) y con ello se podría inferir zonas propicias de expansión de *C. thoermeri* en Sudamérica y examinar si las interacciones del cardo con los insectos locales influyen en su expansión geográfica.

REFERENCIAS

- Altfeld L, Stiling P (2006) Argentine ants strongly affect some but not all common insects on *Baccharis halimifolia*. *Environ Entomol* 35:31–36 doi:10.1603/0046-225X-35.1.31
- Banks CJ (1958) Effects of the ant, *Lasius niger* (L.), on the behaviour and reproduction of the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. *Bull Entomol Res* 49:701–714 doi:10.1017/S0007485300053979
- Baker HG (1965) Characteristics and modes of origin of weeds. En: Burns HG, Stebbins GL (eds) *The genetics of colonizing species*. Academic Press, Estados Unidos de América, pp. 147–172
- Benton TG, Grant A (1999) Elasticity analysis as an important tool in evolutionary and population ecology. *Trends Ecol Evol* 14:467–471 doi:10.1016/S0169-5347(99)01724-3
- Burns JH, Pardini EA, Schutzenhofer MR, Chung YA, Seidler KJ, Knight TM (2013) Greater sexual reproduction contributes to differences in demography of invasive plants and their noninvasive relatives. *Ecology* 94:995–1004 doi:10.1890/12-1310.1
- Caswell H (2001) *Matrix population models: construction, analysis and interpretation*, 2nd edn. Sinauer, Reino Unido
- Chalcoff VR, Lescano MN, Devegili AM (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. *Plant Ecol* 220:125–34 doi:10.1007/s11258-019-00907-2
- Clark RE, Singer MS (2018) Differences in aggressive behaviors between two ant species determine the ecological consequences of a facultative food-for-protection mutualism. *J Insect Behav* 31:510–522 doi:10.1007/s10905-018-9695-8

- Clark RE, Gutierrez Illan J, Comerford MS, Singer MS (2019) Keystone mutualism influences forest tree growth at a landscape scale. *Ecol Lett* 22:1599–1607 doi:10.1111/ele.13352
- Collins CM, Leather SR (2002) Ant-mediated dispersal of the black willow aphid. *Ecol Entomol* 27:238–241 doi:10.1046/j.1365-2311.2002.00390.x
- Crutsinger GM, Sanders NJ (2005) Aphid-tending ants affect secondary users in leaf shelters and rates of herbivory on *Salix hookeriana* in a coastal dune habitat. *Amer Midl Naturalist* 154:296–304 doi:10.1674/0003-0031(2005)154[0296:AAASUI]2.0.CO;2
- Del-Claro K, Oliveira PS (2000) Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. *Oecologia* 124:156–165 doi:10.1007/s004420050002
- Detrain C, Fichaux M, Verheggen F (2017) Tuned protection of aphids by ants against a predatory hoverfly. *Ecol Entomol* 42:235–44 doi:10.1111/een.12378
- Ellner S, Rees M (2006) Integral projection models for species with complex demography. *Am Nat* 167:410–28 doi:10.1086/499438
- Elton CS (1958) *The ecology of invasions by animals and plants*. Springer Nature, Estados Unidos de América
- Eubanks MD, Styrsky JD (2006) Ant-Hemipteran mutualisms: keystone interactions that alter food web dynamics and influence plant fitness. In *Trophic and guild in biological interactions control* (pp. 171-189). Springer, Dordrecht.
- Farji-Brener AG, Ghermandi L (2008) Leaf-cutting ant nests near roads increase fitness of exotic plant species in natural protected areas. *P Roy Soc B-Biol Sci* 275:1431–40 doi:10.1098/rspb.2008.0154
- Ford KR, Ness JH, Bronstein JL, Morris WF (2015) The demographic consequences of

- mutualism: ants increase host-plant fruit production but not population growth.
Oecologia 179:435–446 doi:10.1007/s00442-015-3341-3
- García MB, Ehrlén J (2009) Evaluación de los efectos demográficos y evolutivos de las interacciones planta-animal mediante modelos matriciales. En: Medel R, Aizen M, Zamora R (eds) *Ecología y Evolución de Interacciones Planta-Animal*. Editorial Universitaria, Chile, pp 95–111
- Iakovlev I, Reznikova Z (2019) Red wood ants display natural aversive learning differently depending on their task specialization. *Front Physiol* 10:710 doi:10.3389/fpsyg.2019.00710
- Ibarra-Isassi J, Oliveira PS (2018) Indirect effects of mutualism: ant–treehopper associations deter pollinators and reduce reproduction in a tropical shrub. *Oecologia* 186:691–701 doi:10.1007/s00442-017-4045-7
- Jelbert K, Buss D, McDonald J, Townley S, Franco M, Stott I, ..., Silk M (2019) Demographic amplification is a predictor of invasiveness among plants. *Nat Commun* 10:1–6 doi:10.1038/s41467-019-13556-w
- Jongejans E, Shea K, Skarpaas O, Kelly D, Sheppard AW, Woodburn TL (2008) Dispersal and demography contributions to population spread of *Carduus nutans* in its native and invaded ranges. *J Ecol* 96:687–697 doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01367.x
- Lach L, Parr C, Abbott K (Eds.). (2010). *Ant ecology*. Oxford university press, Oxford
- LeVan KE, Holway DA (2015) Ant–aphid interactions increase ant floral visitation and reduce plant reproduction via decreased pollinator visitation. *Ecology* 96:1620–1630 doi:10.1890/14-0058.1
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361–373

doi:10.1034/j.1600-0706.2001.950301.x

Merow C, Dahlgren JP, Metcalf CJE, Childs DZ, Evans MEK, Jongejans E, Record S, Rees M, Salguero-Gomez R, McMahon SM (2014) Advancing population ecology with integral projection models: a practical guide. *Methods Ecol Evol* 5:99–110
doi:10.1111/2041-210X.12146

Ness JH (2006) A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos* 113:506–514 doi:10.1111/j.2006.0030-1299.14143.x

Nielsen C, Agrawal AA, Hajek AE (2010) Ants defend aphids against lethal disease. *Biol Lett* 6:205–208 doi:10.1098/rsbl.2009.0743

Ramula S, Knight TM, Burns JH, Buckley YM (2008) General guidelines for invasive plant management based on comparative demography of invasive and native plant populations. *J Appl Ecol* 45:1124–33 doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01502.x

Rauschert ESJ, Shea K (2012) Influence of microsite disturbance on the establishment of two congeneric invasive thistles. *PLoS ONE* 7:e45490
doi:10.1371/journal.pone.0045490

Rhainds M, Messing RH (2005) Spatial and temporal density dependence in a population of melon aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), on established and sentinel taro plants. *Appl Entomol Zool* 40:273–282
doi:10.1303/aez.2005.273

Ricciardi A, Hoopes MF, Marchetti MP, Lockwood JL (2013) Progress toward understanding the ecological impacts of nonnative species. *Ecol Monogr* 83:263–82 doi:10.1890/13-0183.1

Rotheray GE (1986) Colour, shape and defence in aphidophagous syrphid larvae (Diptera). *Zool J Linnean Soc* 88:201–216 doi:10.1111/j.1096-3642.1986.tb01188.x

- Sakata H (1995) Density-dependent predation of the ant *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae) on two attended aphids *Lachnus tropicalis* and *Myzocallis kuricola* (Homoptera: Aphididae). *Res Popul Ecol* 37:159–164 doi:10.1007/BF02515816
- Shea K, Kelly D (1998) Estimating biocontrol agent impact with matrix models: *Carduus nutans* in New Zealand. *Ecol Appl* 8:824–32 doi:10.1890/1051-0761(1998)008[0824:ebaiwm]2.0.co;2
- Styrsky JD, Eubanks MD (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:151–164 doi:10.1098/rspb.2006.3701
- Wardle DA, Nicholson KS, Ahmed M, Rahman A (1995) Influence of pasture forage species on seedling emergence, growth and development of *Carduus nutans*. *J Appl Ecol* 225–233 doi:10.2307/2404431
- Way MJ (1963) Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. *Annu Rev Entomol* 8:307–344 doi:10.1146/annurev.en.08.010163.001515
- White EV, Wilson JC, Clarke AR (2006) Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. *Divers Distrib* 12:443–55 doi:10.1111/j.1366-9516.2006.00265.x

TRABAJO DE RESPALDO

Defence variation within a guild of aphid-tending ants explains aphid population growth

ANDRÉS M. DEVEGILI,¹  MARÍA N. LESCANO,¹ 
 ERNESTO GIANOLI^{2,3} 

and ALEJANDRO G. FARJI-BRENER¹  ¹Laboratorio de Investigaciones en Hormigas (LIHO), Laboratorio Ecotono, INIBIOMA (CONICET-UNComa), Bariloche, Argentina, ²Departamento de Biología, Universidad de La Serena, La Serena, Chile and ³Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

Abstract. 1. Mutualism studies often focus on the service provided by single species, while variation in benefits provided by multiple partners is less understood. Ant-aphid food-for-protection mutualisms are suitable to study the implications of intra-guild service variation because they often involve several ant species with varying levels of aggressiveness.

2. We studied an aphid species and its associated ant guild to address whether intra-guild defence variation against aphid natural enemies explains aphid performance on plants (thistles). We surveyed plants with natural abundances of aphids associated with different ant species and estimated aphid population growth. We conducted confrontation experiments between ant species and aphid natural enemies (ladybugs and hoverfly larvae). In plants patrolled by the most aggressive ant species, we determined the ant's probability of expelling aphid natural enemies and tested whether ant exclusion affects the abundance of aphids and their natural enemies.

3. The ant *Dorymyrmex tener* was the most abundant and frequent species on plants and the most aggressive against aphid natural enemies. Aphid populations grew faster on plants patrolled by *D. tener* compared to plants patrolled by *Camponotus distinguendus* or *D. richteri*. Field experiments confirmed that *D. tener* effectively expels aphid natural enemies from plants. When *D. tener* was excluded, the density of aphids decreased, while the abundance of aphid natural enemies increased.

4. The disruption of aphid predation by aggressive and numerically dominant ant species is a determinant of aphid population dynamics. This study illustrates the importance of considering intra-guild service variation to better understand multi-partner mutualisms.

Key words. Aphids, aphid natural enemies, aphid-tending ants, mutualism, population growth, protection.

Introduction

Mutualisms almost always include a diversity of partners that benefit a shared mutualist with services that vary in quality and/or quantity (Stanton, 2003; Palmer *et al.*, 2015). For example, service variation has been described in mutualisms, including pollination (Herrera, 1987, 1989; Morris, 2003;

Madjidian *et al.*, 2008), seed dispersal (Schupp, 1993; Ness *et al.*, 2006; Brodie *et al.*, 2009), and protection against natural enemies (Rico-Gray & Thien, 1989; Del-Claro & Oliveira, 2000; Stanton, 2003; Clark & Singer, 2018). Variation in service quality and/or quantity may result in variation in the shared mutualist fitness (Palmer *et al.*, 2010; Ford *et al.*, 2015). Therefore, to accurately determine the impact of mutualistic interactions on partner population dynamics, it is necessary to identify all service providers within the community and quantify their effects on mutualistic partners. Furthermore, to fully understand the ecological significance of these multi-partner mutualisms

Correspondence: Andrés M. Devegili, Laboratorio Ecotono, CONICET-UNComa, Pasaje Gutiérrez 1125, C.P: 8400, S.C. de Bariloche, Río Negro, Argentina.
 Email: andresdevegili@comahue-conicet.gov.ar

in nature, it is necessary to integrate several approaches. Thus, behavioural assays may contribute information on the quality of the services provided by mutualist partners, while field observations and experiments may allow the estimation of quantitative features of the interactions as well as their impact on the mutualistic partners' fitness.

Protective associations are suitable systems to study the effect of variation in service quality and/or quantity on mutualism. First, these relationships are often facultative, resulting in numerous species engaged in the interaction over time and space (Pringle & Gordon, 2013; Clark & Singer, 2018). Second, defence quality and/or quantity often vary within the guild of protectors (Ness *et al.*, 2006; Miller, 2007; Clark & Singer, 2018). Third, characteristics associated with protection quality and quantity (e.g. aggressiveness, abundance, and frequency) are easy to measure and feasible to manipulate in experiments (Ness *et al.*, 2006; Detrain *et al.*, 2017). Fourth, protected species are often sensitive to defence service variation (Ness *et al.*, 2006; Palmer *et al.*, 2010).

Ant-aphid food-for-protection mutualisms are widespread interactions that can be 'keystone interactions' with significant consequences on ecological communities and potential economic impact on crops (Styrsky & Eubanks, 2007; Zvereva *et al.*, 2010; Clark *et al.*, 2019). Aphids, which are phloem-feeders, excrete honeydew that is consumed by ants, thus providing carbohydrates that support ant activity and colony growth (Shik *et al.*, 2014; Wills *et al.*, 2015; Wittman *et al.*, 2018). During aphid-tending, ant workers remain near aphid colonies guarding them against aphid natural enemies (Stadler & Dixon, 2008). These associations often involve multiple species of protective ants, which may vary in their defensive capabilities both qualitatively and quantitatively (Ness *et al.*, 2006; Mooney & Mandal, 2010; Senft *et al.*, 2017). If a single ant species in the guild is highly efficient in protecting aphids, then it may reduce the abundance of natural enemies and thus change the composition of the arthropod community (Chamberlain & Holland, 2009; Clark & Singer, 2018). Usually, highly efficient aphid protectors tend to monopolise aphid honeydew and are frequently the behaviourally and numerically dominant species in the ant assemblage (Kaplan & Eubanks, 2005; Grover *et al.*, 2007).

In northwestern Patagonia (Argentina), the exotic aphid *Brachycaudus cardui* (L.) (Aphididae: Macrosiphini; Figure S1B, C) feeds on exotic thistles (*Carduus thoermeri* Weinm., Asteraceae; Figure S1A) where it is tended by native aphid-tending ants (Lescano & Farji-Brener, 2011). The relationship between *B. cardui* and its associated ants is facultative and generalised, which allowed us to find several ant species engaged in aphid-tending (Lescano & Farji-Brener, 2011). These ant species are readily distinguishable in the field (Figure S1B-D) and show differences in aggressiveness towards other insects on thistles (A. M. Devegili, pers. observation). Usually, only one ant species visits a plant at a time (Lescano *et al.*, 2014). Given that aphid natural enemies are abundant, diverse (ladybugs, hoverfly larvae, and parasitoids), and co-occur with ant species in thistle patches (A. M. Devegili, pers. observation; Figure S1E-I), the dynamics of aphid populations may depend on the particular tending ant species present on the plant. We

took advantage of this ecological scenario and performed a comparative analysis along with field and behavioural experiments that allowed us to evaluate comprehensively whether variation in defence services provided by ant species affects *B. cardui* populations. We hypothesised that protection by tending ants is a major factor determining aphid population growth on thistles. In particular, we expected that aphid populations on thistles patrolled by the most aggressive and efficient ant species would show the highest rates of population growth.

Materials and methods

Study site and species

We carried out the study in northwestern Patagonia (Argentina, 41.12°S; 71.22°W), in an area comprising herbaceous and shrub-steppe vegetation (Figure S1A). Climate is dry and cold, with a mean annual temperature of 8°C and mean annual precipitation of 600 mm falling mostly during winter (Dimitri, 1962).

Brachycaudus cardui is a small (1.9–2.3 mm long) green aphid native to Europe, Asia, North Africa, and North America, that occurs in dense colonies on stems and leaves of many Asteraceae species (Blackman & Eastop, 2006). In northwestern Patagonia, *B. cardui* feeds on the exotic and invasive *C. thoermeri*, reducing thistle seed output (Chalcoff *et al.*, 2019). Colonies of *B. cardui* are tended by different ant species, which usually monopolise aphid-infested plants (Lescano and Farji-Brener, 2011). In the study area, there were three ant species tending *B. cardui* on thistles: *Dorymyrmer tener* (Mayr, 1868) (Dolichoderinae; Figure S1B), *Camponotus distinguendus* (Spinola, 1851) (Formicinae; Figure S1C), and *D. richteri* (Forel, 1911) (Dolichoderinae; Figure S1D). These ant species nest in the soil and/or under stones, but never on thistles (A. M. Devegili, pers. obs.). The *Dorymyrmex* genus comprises the numerically dominant ant species of the Patagonian steppe (Farji-Brener *et al.*, 2002; Sackmann & Farji-Brener, 2006). Particularly, *D. tener* is the most abundant ant species in the area and it is highly abundant in disturbed sites and roadsides, where *C. thoermeri* also thrives (Farji-Brener *et al.*, 2002). *Dorymyrmex richteri* is the second most abundant ant species in the area, but it is less frequent in disturbed areas compared to *D. tener* (Farji-Brener *et al.*, 2002). *C. distinguendus* is mainly found in scrublands preying on insects on trees or shrubs (Farji-Brener *et al.*, 2002), but this opportunistic species is also found tending aphids on the steppe vegetation (A. M. Devegili, pers. obs.). The defensive roles of these three ant species against aphid natural enemies are currently unknown. The natural enemies of *B. cardui* in thistle patches include ladybugs, such as *Hippodamia variegata* (Goeze, 1777), *Cycloneda* sp., *Eriopis* sp., and *Harmonia axyridis* (Pallas, 1772) (Figure S1E-H), as well as hoverfly larvae: *Allograpta* sp. and *Syrphus* sp. (Figure S1I). Since identifying hoverfly species at the egg and larval stages was difficult, we did not distinguish hoverfly species in the analyses.

Field pattern: Ant identity and abundance versus. aphid population growth

To determine the effect of aphid-tending ants on aphid population growth, in a thistle patch of 200 × 4 m we marked plants and characterised the ant and aphid assemblage every 15 days during 3 months (i.e. six surveys). We sampled plants during late spring and early summer (November–January), the seasons when the insect species in the study system are fairly abundant. To estimate aphid abundance on thistles, we counted the aphid groups on a plant and multiplied this number by the average number of individuals per group. To estimate the average number of aphids in a group, we took photographs of different aphid groups ($n = 60$) and counted individuals with ImageJ software (Schneider *et al.*, 2012). We estimated aphid population growth with the intrinsic rate of increase (r),

$$r = \frac{\ln(\text{aphid abundance}_{t_f}) - \ln(\text{aphid abundance}_{t_i})}{(t_f - t_i)},$$

where t_f and t_i are the final and initial time of the sampling period, respectively. Values of $r > 0$, $r = 0$, and $r < 0$ indicate that aphid population is increasing, stable or decreasing, respectively (Begon *et al.*, 2006). The intrinsic rate of increase follows an exponential growth model, which assumes that resources are unlimited for aphid populations. Several observations support that this assumption is met in our system. First, thistles are abundant in the study area, representing a large source of food and space for aphids (Figure S1A). Second, thistles are available during the whole life cycle of *B. cardui*. Third, thistles showing high levels of aphid infestation, i.e. plants with all stems covered with aphids, were uncommon (<3% of the plants surveyed).

In all the thistle surveys, we determined whether plants were occupied by ants, identified ant species, and counted ant workers. Aphid-infested plants that were found to host a single ant species in ≥50% of the surveys, and otherwise were ant-free, were categorised as occupied by this particular ant species (*D. tener*: $n = 41$, *C. distinguendus*: $n = 25$, and *D. richteri*: $n = 24$). Thistles with aphids but lacking ants during the whole survey were categorised as ‘aphid-infested plants without ants’ ($n = 34$; see Supporting Information for more details on how we determined the ant-guarding state). To estimate the abundance of ants on thistles, we averaged the six ant counts coming from the six plant surveys. Surveyed thistles were (i) close to each other, (ii) naturally interspersed in the area, and (iii) similar in size and other characteristics (Table S1); therefore, it can be safely assumed that plant quality was similar in all groups. As a consequence, we assumed that the initial conditions of aphid-infested thistles were similar for all ant species and that variation in aphid population growth rates depended on the differences in defence services provided by each ant species. To examine the relationship between ant identity and aphid population intrinsic rate of increase (r), we performed a one-way ANOVA including aphid-infested plant status as a four-level factor: (i) without ants, (ii) occupied by *D. tener*, (iii) occupied by *C. distinguendus*, or (iv) occupied by *D. richteri*. To examine the relationship between ant number and r , we used correlation tests for each species (Pearson’s product–moment correlation; Puth *et al.*, 2014). In this regard, we further fitted linear and

nonlinear regression models (*glm* and *drm* functions from *stats* and *drc* packages; Ritz *et al.*, 2016), and searched for possible threshold values (*davies.test* function from *segmented* package; Muggeo, 2008). Among the nonlinear models, we particularly tested saturation functions, which have proven effective in describing the relationship between defence quality and quantity (Ness *et al.*, 2006). To choose the best regression model, we used the Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC) (Kuha, 2004). Analyses were done in R (R Core Team, 2016).

Ant aggressiveness in the lab: Pairwise encounters with aphid natural enemies

To quantify the agonistic behaviours displayed by aphid-tending ants, we observed pairwise interactions between ants and aphid natural enemies (adult ladybugs and hoverfly larvae). In a steppe area next to the study site, we collected ant workers directly from thistles using an insect aspirator (~200 ants per species). To account for colony variation in ant aggressiveness, we collected ants from thistles that were at least 30 m apart (5–8 thistles per ant species). This distance was sufficient to assume that ants occupying thistles came from different colonies (see Supporting Information for more details). We took ants to the laboratory and housed them in plastic containers (10 × 8 × 5 cm). We separated ants by species and colony (i.e. the thistle from, which they were collected). Ants had free access to water, sugary water, and were fed one *Tenebrio molitor* larva daily. Likewise, we collected from thistles adult ladybugs (*Hippodamia variegata*: $n = 23$, *Cycloneda* sp.: $n = 29$, and *Eriopis* sp.: $n = 34$) and hoverfly larvae ($n = 91$), and took them to the laboratory where they were kept in plastic containers (10 × 8 × 5 cm). Ladybugs and hoverfly larvae had free access to water (moistened cotton) and were fed aphids (*B. cardui*) *ad libitum*. We housed ladybugs according to species identity. The confrontation arena was a 3 cm-diameter container with a mobile septum that divided the arena into two compartments, thus isolating the ant and the aphid natural enemy before the encounter. To further elicit ant defensive behaviour, we fitted at the base of the arena a filter paper marked with the odour of the tested ant species. The filter paper was placed 24 h before the encounter inside the target colony container together with a piece of thistle stem infested with *B. cardui*. Each confrontation test lasted 4 min ($n = 27–31$). Following a habituation time of 1 min, we removed the septum and video-recorded (×20 magnification) the confrontation for the remaining 3 min. To characterise ant defence efficiency, we measured the time to first contact with the aphid natural enemy (hereafter, encounter time). We identified six ant behaviours from the recordings: (i) ‘escape’, following contact the ant flees in opposite direction; (ii) ‘antennation’, antennae placed onto the aphid enemy for more than 2 s; (iii) ‘threat’, ant standing still with mandibles open and antennae slightly extended towards the aphid enemy; (iv) ‘short bites’, sudden attack with brief bites (less than 2 s); (v) ‘long bites’, persistent biting (more than 2 s) of any part of the aphid enemy body; and (vi) ‘gaster flexing’, ant bends its gaster towards the aphid enemy, releasing a repellent substance

(Video S1). Then, we scored ant aggressiveness using the following index:

$$\text{Aggressiveness index} = \frac{\sum_i^6 \text{frequency}_i \times \text{behaviour}_i}{\sum_i^6 \text{frequency}_i},$$

in which ‘frequency’ is the occurrence of each interaction in a trial and ‘behaviour’ is a constant that weights the aggression intensity (‘escape’ = -1, ‘antennation’ = 0, ‘threat’ = 1, ‘short bites’ = 2, ‘long bites’ = 3, and ‘gaster flexing’ = 3). A negative, zero, or positive aggression index means that ants exhibit (on average) elusive, neutral, or aggressive behaviours towards aphid natural enemies, respectively. To increase sample size, we did not distinguish ladybug species and hoverfly sizes in the analyses. To analyse the encounter time of ant species with ladybugs or hoverfly larvae, we used a generalised linear model with a negative binomial distribution (function *glm.nb* from R package ‘Mass’; Ripley *et al.*, 2013). To compare the aggressiveness indices between the three ant species, we used a linear mixed effect model (LME) with ant species as a fixed factor and thistle plant (i.e. colony identity) as a random factor. To build LME we used function *lmer* from package ‘lme4’ (Bates *et al.*, 2015). Analyses were done in R.

Ant defence service in the field: Interactions between ants, aphids, and their enemies

We used the ant species with the highest aggressiveness index (*D. tener*, see Section 3) to test in natural conditions whether ants deter aphid enemies and affect aphid populations on plants. We selected thistles ($n = 30$) patrolled by *D. tener* and infested with *B. cardui*. In each plant, we selected two similar stems: in one stem ants were left undisturbed (control) and in the other stem ants were excluded (ant exclusion). To exclude ants, we wrapped the base of the stems with duct tape (Ductac®), gently coated the tape with lithium grease (Lubrigras®), and removed the remaining ants with an insect aspirator. In each stem, we selected an aphid group and, with a permanent marker, drew a spot on the stem at 2 cm distance from the aphid group that served as reference. We then gently placed on the spot the ladybugs or hoverfly larvae, which were transferred singly using soft tweezers (Video S2). Each experiment lasted 5 min, and the aphid natural enemy was considered successfully deterred when it was ejected from the plant or killed by ants. Conversely, we considered an ejection unsuccessful when the aphid enemy stayed at the plant during the whole trial. We used four ladybug species, *Eriopis* sp. (ants present: $n = 23$, ants excluded: $n = 16$), *H. variegata* (ants present: $n = 23$, ants excluded: $n = 14$), *Cycloneda* sp. (ants present: $n = 20$, ants excluded: $n = 15$), and *H. axyridis* (ants present: $n = 20$, ants excluded: $n = 11$), and the larvae of two hoverfly species (ants present: $n = 30$, ants excluded: $n = 19$). Because the aggressiveness of ants towards hoverfly larvae depends on the larval size (Detrain *et al.*, 2017), we categorised hoverfly larvae into three size groups: (i) small: <4 mm long, (ii) medium: 4–10 mm, and (iii) large: >10 mm, and performed analyses accordingly. Ladybug species differed in size (Figure S1E–H), but we did not consider size as a covariate in the analysis because

it showed negligible variation at the within-species level. To analyse the probability for aphid enemies of being ejected from the plant, we used a generalized linear model (GLM) with binomial error distribution.

To evaluate the defence service provided by the ant *D. tener* to the aphid *B. cardui*, we excluded ants from stems, surveyed aphid populations, and counted aphid enemies. We identified thistle plants ($n = 30$) infested with *B. cardui* and patrolled by *D. tener*. In each plant, we selected two similar stems and randomly assigned one of them to the ant exclusion treatment (ants were excluded as described above), and the other stem served as control (free access to ants). In each stem, we marked one aphid group and took photographs of the aphids (from all cardinal points) every 5 days during 20 days; then we counted individuals with ImageJ software (Schneider *et al.*, 2012) and calculated aphid density dividing the number of individuals by the area occupied by the aphid group (stem surface with aphids: $2\pi \times \text{stem radius} \times \text{stem height}$). We also counted the number of (i) adult ladybugs, (ii) hoverfly larvae, and (iii) hoverfly eggs. Finally, to assure that the effects of the ant exclusion treatment on aphids and aphid natural enemies were actually caused by the lack of ants, on the 15th day we allowed ant access to half of the ant-excluded stems ($n = 15$; hereafter, ‘ant exclusion reversion’ treatment). Using sisal yarn, we made artificial bridges that connected the ant-excluded stem and the adjacent stem with ants; this procedure was proven effective earlier (Lescano *et al.*, 2015). To analyse the effects of ant exclusions on aphid density and abundance of ladybugs, hoverfly larvae, and hoverfly eggs, we fitted generalised linear mixed models (GLMM, function *glmmadmb* from R package ‘glmmADMB’; Skaug *et al.*, 2014) with stem treatment as a fixed factor (levels: control and ant exclusion) and plant identity as a random factor; we used negative binomial error distribution for aphid density and Poisson error distribution for the abundance of ladybugs, hoverfly larvae, and hoverfly eggs. In the 20th day, we compared ant exclusion and ‘ant exclusion reversion’ treatments with a zero-inflated regression model (function *zeroinfl* from R package ‘pscl’; Jackman *et al.*, 2017). All the analyses were done in R.

Results

Field pattern: Ant identity and abundance versus. aphid population growth

Among aphid-tending ants, *D. tener* occupied and patrolled thistles with higher frequency and abundance than *C. distinguendus* and *D. richteri* (Table 1). Ant identity affected the intrinsic rate of increase of aphid populations (r) (ANOVA, $F_{3,123} = 11.5$, $P < 0.001$), with aphid populations increasing at a higher rate on plants hosting *D. tener* ($r = 0.06 \pm 0.004 \text{ day}^{-1}$, mean \pm SE) than on plants hosting *C. distinguendus* (0.03 ± 0.006), *D. richteri* (0.03 ± 0.005) or lacking ants (0.003 ± 0.007) (Fig. 1a). The relation between the number of *D. tener* ants and r was statistically significant, positive (Pearson correlation test, $t = 3.2$, $P = 0.002$, $r = 0.47$; GLM, $t = 3.2$, $P = 0.003$), and linear (Fig. 1b; Table S2); no threshold points were found for the linear relationship. Neither *C. distinguendus* nor *D. richteri* ant numbers showed an association with r (Fig. 1b).

Table 1. Comparison of defence features of the aphid-tending ant species *Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, and *D. richteri*. Within rows, values that share the same lowercase letter are not significantly different (Tukey test, following GLMs and linear mixed effects).

	<i>D. tener</i> (mean ± SE)	<i>C. distinguendus</i> (mean ± SE)	<i>D. richteri</i> (mean ± SE)	<i>P</i>
Defence quantity				
Occupancy percentage*	83 ± 3a	60 ± 4b	55 ± 4b	0.03
Abundance†	20.3 ± 2.7a	5.4 ± 0.9b	2.3 ± 0.3c	<0.001
Defence quality				
Aggressiveness index‡	1.8 ± 0.1a	0.2 ± 0.1b	-0.3 ± 0.1c	<0.001

*The same plant in six surveys.

†Average number of ants in six plant surveys.

‡Average aggressiveness towards ladybugs or hoverfly larvae; values range from -1 (avoidance behaviour) to +3 (aggressive behaviour)

Ant aggressiveness in the lab: Pairwise encounters with aphid natural enemies

Ant species differed in their encounter time with aphid natural enemies, with *D. tener* contacting ladybugs (GLM, $\chi^2 = 34.01$, $P < 0.001$) or hoverfly larvae ($\chi^2 = 28.81$, $P < 0.001$) faster than *C. distinguendus* and *D. richteri* (Fig. 2a, d). *Dorymyrmex tener* showed a high frequency of aggressive behaviours, such as 'threat', 'short bites', 'long bites', and 'gaster flexing', while *C. distinguendus* and *D. richteri* showed a high frequency of passive behaviours, such as 'escape' and 'antennation' (Fig. 2b, e). Accordingly, ant species differed in their aggressiveness index (Table 1), with *D. tener* being the most

aggressive ant towards ladybugs (LME, $\chi^2 = 88.8$, $P < 0.001$; Fig. 2c) and hoverfly larvae (LME, $\chi^2 = 348.0$, $P < 0.001$; Fig. 2f).

Ant defence service in the field: Interactions between ants, aphids, and their enemies

The number of *D. tener* was positively associated with ejection probability for ladybugs in three of the four ladybug species (GLM, *Eriopsis* sp.: $z = 2.84$, $P = 0.004$; *H. variegata*: $z = 3.09$, $P = 0.002$; *H. axyridis*: $z = 3.02$, $P = 0.003$; and *Cycloneda* sp.: $z = 1.72$, $P = 0.08$) (Fig. 3a). The number of *D. tener* was positively associated with ejection probability for hoverfly larvae in two of the three size categories (GLM, small size: $z = 2.11$, $P = 0.03$; medium size: $z = 2.26$, $P = 0.02$; and large size: $z = 1.60$, $P = 0.10$) (Fig. 3b). Neither adult ladybugs nor hoverfly larvae dropped from thistles when placed on ant-excluded stems.

Aphid density was higher on stems with the ant *D. tener* than on stems with ant exclusion (GLMM, $\text{LR}\chi^2 = 108.66$, $P < 0.001$) (Fig. 4a). The average number of ladybugs and hoverfly larvae was lower on stems with the ant *D. tener* than on stems with ant exclusion (GLMM, ladybugs: $\text{LR}\chi^2 = 10.70$, $P = 0.0011$, hoverfly larvae: $\text{LR}\chi^2 = 15.48$, $P < 0.001$) (Fig. 4b, c). The 'ant exclusion reversion' caused an increase in aphid density (Zero-inflated, $z = 2.462$, $P = 0.014$) (Fig. 4a), a decrease in the number of hoverfly larvae ($z = 2.562$, $P = 0.024$) (Fig. 4c), and despite the abundance of ladybugs did not change ($z = 0.081$, $P = 0.94$), it also showed a tendency to decrease (Fig. 4b). Likewise, the number of hoverfly eggs was lower

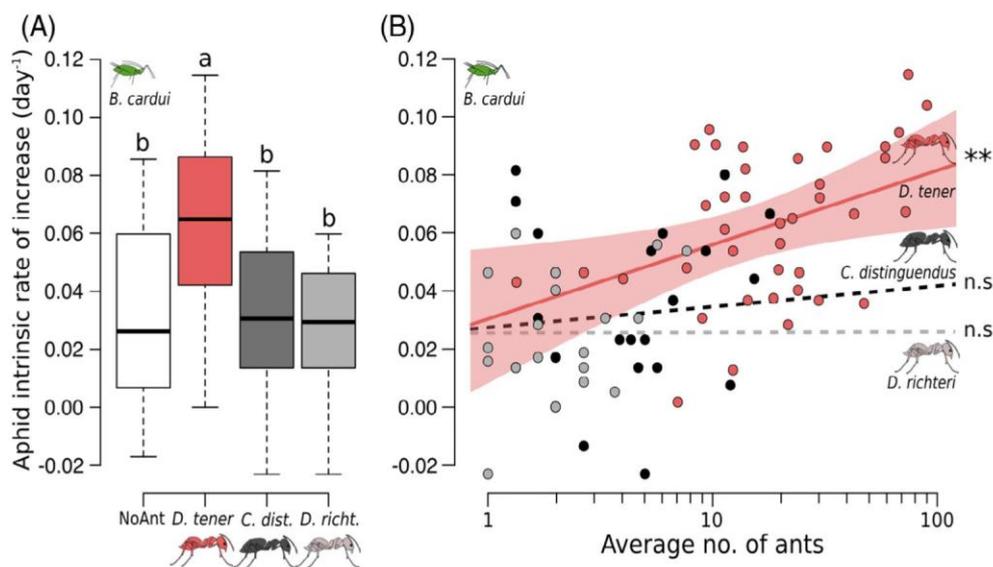


Fig. 1. Field pattern: ant identity and abundance versus aphid population growth. (a) Boxplots of aphid population intrinsic rate of increase (r , day^{-1}) on plants occupied by different ant species. Aphid-infested plants without ants are labelled as 'NoAnt' (white box). Aphid-infested plants with ants are labelled with the ant species name: *Dorymyrmex tener* (*D. tener*, red box), *Camponotus distinguendus* (*C. dist.*, black box); *D. richteri* (*D. richt.*, grey box). Boxplots sharing lowercase letters above error bars are not significantly different ($P > 0.05$, Tukey tests following One-way ANOVA). (b) Relationship between ant abundance (average number of ants in six plant surveys) and aphid population intrinsic rate of increase (r , day^{-1}) for the three aphid-tending ant species. The shaded area is the standard error of linear regression. ** $P < 0.01$; n.s.: not significant. [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com].

6

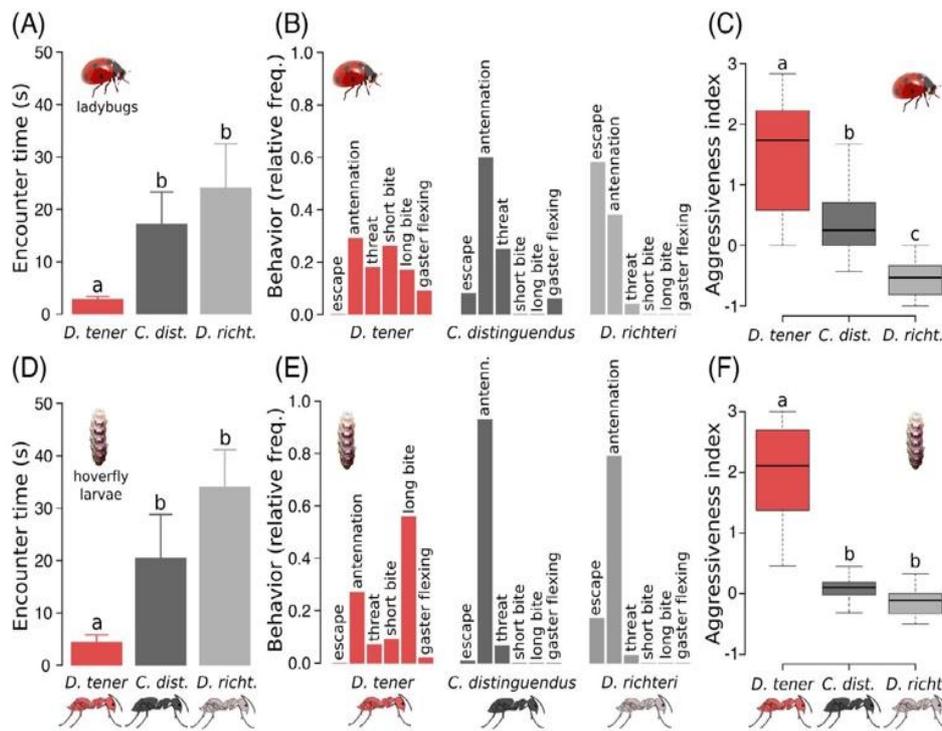


Fig. 2. Pairwise encounters between aphid-tending ants and aphid natural enemies. Encounter time of ant species with ladybugs (a) and hoverfly larvae (d). Relative frequency of each ant behaviour towards ladybugs (b) and hoverfly larvae (e); ant behaviours increase in aggressiveness from left to right. Aggressiveness indices of ant species towards ladybugs (c) or hoverfly larvae (f). Dots and whiskers represent Mean \pm SE. Lowercase letters on error bars depict differences between ant species (Post-Hoc Tukey tests). *Dorymyrmex tener* (red) = *Dorymyrmex tener*; *C. dist.* (black) = *Camponotus distinguendus*; *D. richti.* (grey) = *D. richteri*. [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com].

on stems with the ant *D. tener* than on stems with ant exclusion (GLMM, $LR\chi^2 = 78.56$, $P < 0.001$), and the number of hoverfly eggs decreased after the ‘ant exclusion reversion’ (Zero-inflated, $z = 2.346$, $P = 0.019$).

Discussion

Within mutualist guilds, service providers of different quality and quantity are expected to be found exerting differential effects on shared mutualists. Understanding this variation may yield insights into the ecological dynamics of mutualisms (Stanton, 2003; Palmer *et al.*, 2015). In the studied aphid-tending ant guild, both defence quality and quantity were important to explain the aphid population growth rate. Concerning defence quality, a particular ant species, *D. tener*, was by far the most aggressive species towards aphid natural enemies in laboratory confrontation experiments and in the field, where *D. tener* efficiently expelled aphid natural enemies from thistle host plants; the other ant species, *C. distinguendus* and *D. richteri* exhibited little aggressiveness. Likewise, quantitative aspects of defence were clearly different among ant species, with the aggressive *D. tener* being more abundant and frequent on thistles than the other ant species. Furthermore, the experimental exclusion of *D. tener* caused an increase in aphid density and a decrease in the abundances of aphid natural enemies, evidencing that defence provided by *D. tener* is the main cause of increased aphid population growth rate. Collectively, results support the

notion that evaluations of defence quality and quantity can accurately predict, which ant species is the best aphid protector in the community. Moreover, this study illustrates the importance of integrating behavioural assays with ecological analyses to better understand the impact of multi-partner associations in nature.

Defence quality has been shown to be important in other food-for-protection associations between ants, plants, and homopterans, in which usually the best protectors were competitively dominant ant species that exhibited aggressive behaviours towards other arthropods in the community (Grover *et al.*, 2007; Fagundes *et al.*, 2017; Clark & Singer, 2018). Variation in service quantity, which stems from differences in abundances and frequencies of the mutualist partners, may also be important in determining the population dynamics of mutualists (Palmer *et al.*, 2010). We showed that *D. tener* is the most abundant and frequent ant visitor of thistle plants and that its numerical dominance played an important role in the mutualist interactions studied. Thus, *D. tener* abundance was associated with both the probability of expelling aphid natural enemies from plants and aphid population growth, which supports the idea that – together with service quality – service quantity may determine the outcome of aphid protection against natural enemies. Aphid natural enemies are abundant, diverse (e.g. ladybugs, hoverfly larvae, and parasitoids), and with different attack strategies. A high density of attending ants may increase the chances of killing or expelling aphid enemies, even if they are initially resistant to ants, and may also decrease the encounter time of aphid enemies. The latter is particularly important with

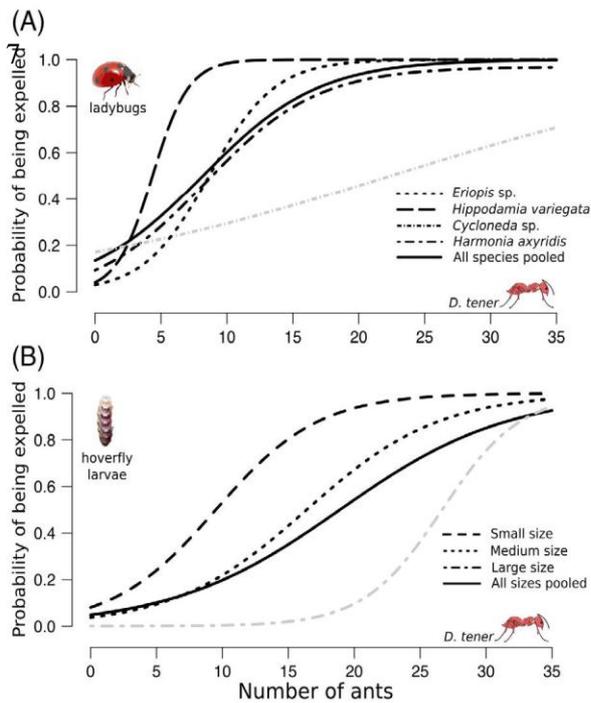


Fig. 3. Ant number and expulsion of aphid natural enemies. Relationship between the number of *Dorymyrmex tener* ants tending aphids and the probability for aphid natural enemies (a, Ladybugs; b, Hoverfly larvae) of being expelled from thistle stems. Relationships were tested with univariate logistic regressions. Black curves = significant regression; grey curves = non-significant regression. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](#)].

ladybugs, which are active and voracious predators that can decrease aphid populations in a short time (Beltrà *et al.*, 2018). Although increased ant number may be positively associated with aphid protection, a high number of attending ants could also be detrimental if increased tending intensity imposes a cost on aphids (Yoo & Holway, 2011). Interestingly, we found that *D. tener* abundance was positively associated with aphid population growth in a linear fashion, suggesting that a high level of ant attendance is not costly for aphids and that defence quantity provided by ants may not necessarily compromise defence quality.

Although mutualisms are usually considered pairwise beneficial associations, a more realistic approach considers them as beneficial interactions between guilds of multiple partner species (Stanton, 2003; Palmer *et al.*, 2015). Interestingly, here the aphid-tending ant assemblage did not behave as a mutualist guild. Thus, only the aggressive and abundant ant species increased aphid fitness, i.e. acted as a “true” mutualist, while the subordinate ant species did not affect aphid fitness, i.e. behaved as commensalists (we verified that all three ant species consume aphid honeydew). Losing control of aphids and plants from rival ants can be costly to the ant colony, even more so than the cost associated with aphid predation by natural enemies (Phillips & Willis, 2005). Therefore, in multi-partner associations, dominant ant species are often found monopolising the mutualistic interaction with aphids and decreasing the abundance of subordinate ant species (Blüthgen

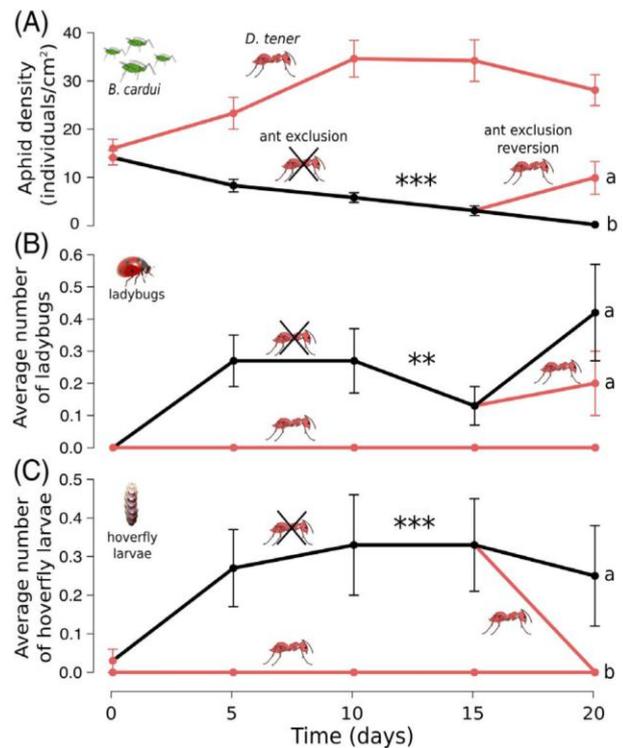


Fig. 4. Ant exclusion versus aphid density and aphid enemy abundances. Effects of excluding the aggressive ant *Dorymyrmex tener* from thistle stems on aphid density (a) and the average number of ladybugs (b) and hoverfly larvae (c). Red curves represent thistle stems with *D. tener* ($n = 30$) and black curves represent thistle stems in which *D. tener* was excluded ($n = 30$). On the 15th day, ants were allowed access to half of the ant-excluded stems using artificial bridges of sisal yarn (ant exclusion reversion). Asterisks depict significant differences between stems with and without ant exclusion. Different lowercase letters indicate significant differences between ant exclusion and ‘ant exclusion reversion’ treatments. Dots and whiskers represent mean \pm SE. $**P < 0.01$; $***P < 0.001$. [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](#)].

& Fiedler, 2004; Grover *et al.*, 2007; Wilder *et al.*, 2013). In fact, previous studies in the study system showed that aphid-tending ants usually monopolise aphid-infested thistles and exhibit nocturnal defensive behaviours to secure thistles and aphid honeydew (Lescano *et al.*, 2014, 2015), suggesting that interspecific competition within the aphid-tending guild is significant.

Although the most aggressive and abundant ant species acted as the only mutualist in the aphid-tending ant guild, this interaction might shift to either commensalism, parasitism, or predation. For example, if the abundance of aphid enemies decreases considerably, the best aphid protector would continue to benefit from sugary rewards while aphids obtain negligible benefits. This scenario could result in commensalism if ants do not disturb aphids, or shift to parasitism if honeydew consumption imposes a cost on aphids (Cushman & Whitham, 1989; Stadler & Dixon, 1998; Vantaux *et al.*, 2015). Ant-aphid mutualisms may even shift to predation if aphid abundance increases dramatically, and thus aphid honeydew provision exceeds ant requirements; under this scenario, ants may start preying on aphids to maintain the sugar: protein balance in the

diet (Sakata, 1994). Finally, reduced interspecific competition within the aphid-tending ant guild, for example in plant patches lacking the aggressive (and mutualistic) ant species, could cause behaviourally passive (and so far commensalistic) ant species to increase in abundance and probably start providing actual protection to aphids, despite fitted lines in Fig. 1b would suggest otherwise. This could occur since an increase in ant number can enhance ant aggressiveness towards other insects (Tanner, 2006, 2008) and improve the detection of aphid natural enemies. In summary, the ecological scenario may influence the actual role of aphid-tending ants as aphid mutualists in the community.

By combining behavioural assays with field experiments and observations, we showed that defence quality and quantity vary within an aphid-tending ant guild and that this variation is associated with aphid population growth. We found that only the most aggressive and abundant ant species increased aphid fitness, thus behaving like a true mutualist, while subordinate, behaviourally passive ant species had no effect on aphid fitness and thus behaved as commensalists. Knowledge of which ant species actually behave as aphid mutualists are critical since ant-hemiptera associations are often 'keystone interactions' (Styrsky & Eubanks, 2007; Zhang *et al.*, 2012) with far-reaching consequences for the communities in which they are embedded (Kaplan & Eubanks, 2005; Clark *et al.*, 2019). In this regards the present study contributes to our understanding of the effects of defence service variation on aphid populations, which will enhance our ability to predict the ecological consequences of ant-aphid mutualisms.

Acknowledgements

We thank Agustín Lovrich, Tomás González, and Daniela González for field assistance and Florencia Baudino and Guillermo González for help with the identification of ladybug species. We thank Marina Alma, Victoria Werenkraut, Micaela Buteler, Daniela Ortiz, and members of the ECOLFUN laboratory for helpful suggestions during the course of the research. We thank two anonymous reviewers and the editors for helpful recommendations on the manuscript. Andrés Matías Devegili is supported by a doctoral fellowship from the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas of Argentina.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Author Contributions

All the authors conceived the study and designed the methodology, AMD collected the data, AMD analysed the data, and AMD and AGFB led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are openly available in the Figshare Repository at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.12196719.v3>.

Supporting Information

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

Appendix S1: Supporting information.

Fig. S1. Study system. Photographs of a *Carduus thoermeri* patch and thistle plants with aphid-tending ants (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, or *D. richteri*), aphids (*Brachycaudus cardui*), or aphid natural enemies (ladybugs and hoverfly larvae).

Table S1. Comparison of *Carduus thoermeri* traits (height, stem number, and inflorescence number) and aphid initial abundance under two natural conditions: i) ant-guarded thistles (*Dorymyrmex tener*, *Camponotus distinguendus*, or *D. richteri*) and ii) unguarded thistles (without aphid-tending ants).

Table S2. Rankings and goodness of fit of null, linear, and nonlinear models linking *Dorymyrmex tener* abundance and aphid population growth rate.

Video S1. Ant behaviours used to characterise the aggressiveness of ant species towards aphid natural enemies.

Video S2. Response of the most aggressive ant species to the intrusion of a ladybug into an aphid-infested thistle stem.

References

- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R.H.B., Singmann, H. ... & Fox, J. (2015) *Package 'lme4'. R package version 1.1–23*. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/index.html> [accessed on 1 April 2020].
- Begon, M., Townsend, C.R. & Harper, J.L. (2006) *Ecology: From Individuals to Ecosystems*, 4th edn. Blackwell Publishing, Malden.
- Beltrà, A., Wäckers, F.L., Nedvěd, O. & Pekas, A. (2018) Predation rate and performance of three ladybirds against the green peach aphid *Myzus persicae* in sweet pepper. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **166**, 491–499.
- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. (2006) *Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Blüthgen, N. & Fiedler, K. (2004) Competition for composition: lessons from nectar-feeding ant communities. *Ecology*, **85**, 1479–1485.
- Brodie, J.F., Helmy, O.E., Brockelman, W.Y. & Maron, J.L. (2009) Functional differences within a guild of tropical mammalian frugivores. *Ecology*, **90**, 688–698.
- Chalcoff, V.R., Lescano, M.N. & Devegili, A.M. (2019) Do novel interactions with local fauna have reproductive consequences for exotic plants? A case study with thistles, ants, aphids, and pollinators. *Plant Ecology*, **220**, 125–134.
- Chamberlain, S.A. & Holland, J.N. (2009) Quantitative synthesis of context dependency in ant–plant protection mutualisms. *Ecology*, **90**, 2384–2392.

- Clark, R.E., Illan, J.G., Comerford, M.S. & Singer, M.S. (2019) Keystone mutualism influences forest tree growth at a landscape scale. *Ecology Letters*, **22**, 1599–1607.
- Clark, R.E. & Singer, M.S. (2018) Differences in aggressive behaviors between two ant species determine the ecological consequences of a facultative food-for-protection mutualism. *Journal of Insect Behavior*, **31**, 510–522.
- Cushman, J. & Whitham, T.G. (1989) Conditional mutualism in a membracid-ant association: temporal, age-specific, and density-dependent effects. *Ecology*, **70**, 1040–1047.
- Del-Claro, K. & Oliveira, P.S. (2000) Conditional outcomes in a neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteran fecundity. *Oecologia*, **124**, 156–165.
- Detrain, C., Fichaux, M. & Verheggen, F. (2017) Tuned protection of aphids by ants against a predatory hoverfly. *Ecological Entomology*, **42**, 235–244.
- Dimitri, M.J. (1962) La Flora Andino-Patagónica. *Anales de Parques Nacionales*, pp. 1–115. SAGN, Direccion Nacional de PN, Buenos Aires.
- Fagundes, R., Dáttilo, W., Ribeiro, S.P., Rico-Gray, V., Jordano, P. & Del-Claro, K. (2017) Differences among ant species in plant protection are related to production of extrafloral nectar and degree of leaf herbivory. *Biological Journal of the Linnean Society*, **122**, 71–83. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx059>.
- Farji-Brener, A.G., Corley, J.C. & Bettinelli, J. (2002) The effects of fire on ant communities in North-Western Patagonia: the importance of habitat structure and regional context. *Diversity and Distributions*, **8**, 235–243.
- Ford, K.R., Ness, J.H., Bronstein, J.L. & Morris, W.F. (2015) The demographic consequences of mutualism: ants increase host-plant fruit production but not population growth. *Oecologia*, **179**, 435–446.
- Grover, C.D., Kay, A.D., Monson, J.A., Marsh, T.C. & Holway, D.A. (2007) Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in Argentine ants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 2951–2957.
- Herrera, C.M. (1987) Components of pollinator “quality”: comparative analysis of a diverse insect assemblage. *Oikos*, **50**, 79–90.
- Herrera, C.M. (1989) Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the “quantity” component in a plant-pollinator system. *Oecologia*, **80**, 241–248.
- Jackman, S., Tahk, A., Zeileis, A., Maimone, C., Fearon, J. & Meers, Z. (2017) *Package ‘pscl’*. R package version 1.5.2. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/pscl/index.html> [accessed on 15 February 2019].
- Kaplan, I. & Eubanks, M.D. (2005) Aphids alter the community-wide impact of fire ants. *Ecology*, **86**, 1640–1649.
- Kuha, J. (2004) AIC and BIC: comparisons of assumptions and performance. *Sociological Methods & Research*, **33**, 188–229.
- Lescano, M.N. & Farji-Brener, A.G. (2011) Exotic thistles increase native ant abundance through the maintenance of enhanced aphid populations. *Ecological Research*, **26**, 827–834.
- Lescano, M.N., Farji-Brener, A.G. & Gianoli, E. (2014) Nocturnal resource defence in aphid-tending ants of northern Patagonia. *Ecological Entomology*, **39**, 203–209.
- Lescano, M.N., Farji-Brener, A.G. & Gianoli, E. (2015) Outcomes of competitive interactions after a natural increment of resources: the assemblage of aphid-tending ants in northern Patagonia. *Insectes Sociaux*, **62**, 199–205.
- Madjidjian, J.A., Morales, C.L. & Smith, H.G. (2008) Displacement of a native by an alien bumblebee: lower pollinator efficiency overcome by overwhelmingly higher visitation frequency. *Oecologia*, **156**, 835–845.
- Miller, T.E.X. (2007) Does having multiple partners weaken the benefits of facultative mutualism? A test with cacti and cactus-tending ants. *Oikos*, **116**, 500–512.
- Mooney, K.A. & Mandal, K. (2010) Competition hierarchies among ants and predation by birds jointly determine the strength of multi-species ant–aphid mutualisms. *Oikos*, **119**, 874–882.
- Morris, W.F. (2003) Which mutualists are most essential? Buffering of plant reproduction against the extinction of pollinators. *The Importance of Species: Perspectives on Expendability and Triage, 1st Edn* (ed. by P. Kareiva and S. A. Levin), pp. 260–280. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Muggeo, V.M.R. (2008) *Package ‘segmented’*. R package version 1.1–0. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/segmented/index.html> [accessed on 1 April 2020].
- Ness, J.H., Morris, W.F. & Bronstein, J.L. (2006) Integrating quality and quantity of mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*, **87**, 912–921.
- Palmer, T.M., Doak, D.F., Stanton, M.L., Bronstein, J.L., Kiers, E.T., Young, T.P. *et al.* (2010) Synergy of multiple partners, including freeloaders, increases host fitness in a multispecies mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 17234–17239.
- Palmer, T.M., Pringle, E.G., Stier, A. & Holt, R.D. (2015) Mutualism in a community context. *Mutualism*, 1st edn (ed. by J. L. Bronstein), pp. 159–180. Oxford University Press, New York, New York.
- Phillips, I.D. & Willis, C.K. (2005) Defensive behavior of ants in a mutualistic relationship with aphids. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 321–325.
- Pringle, E.G. & Gordon, D.M. (2013) Protection mutualisms and the community: geographic variation in an ant-plant symbiosis and the consequences for herbivores. *Sociobiology*, **60**, 242–251.
- Puth, M.T., Neuhäuser, M. & Ruxton, G.D. (2014) Effective use of Pearson’s product–moment correlation coefficient. *Animal Behavior*, **93**, 183–189.
- R Core Team (2016) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*.
- Rico-Gray, V. & Thien, L.B. (1989) Effect of different ant species on reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae). *Oecologia*, **81**, 487–489.
- Ripley, B., Venables, B., Bates, D.M., Hornik, K., Gebhardt, A., Firth, D. & Ripley, B. (2013) *Package ‘Mass’*. R package version 7.3–51.4. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/MASS/index.html> [accessed on 15 February 2019].
- Ritz, C., Streibig, J.C. & Ritz, M.C. (2016) *Package ‘drc’*. R package version 3.0–1. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/drc/index.html> [accessed on 5 April 2020].
- Sackmann, P. & Farji-Brener, A.G. (2006) Effect of Fire on Ground Beetles and Ant Assemblages along an Environmental Gradient in NW Patagonia: Does Habitat Type Matter? *Ecoscience*, **13**, 360–371.
- Sakata, H. (1994) How an ant decides to prey on or to attend aphids. *Population Ecology*, **36**, 45–51.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceiri, K.W. (2012) NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9**, 671–675.
- Schupp, E.W. (1993) Quantity, quality and the effectiveness of seed dispersal by animals. *Vegetatio*, **107**, 15–29.
- Senft, M., Weisser, W.W. & Zytynska, S.E. (2017) Habitat variation, mutualism and predation shape the spatio-temporal dynamics of tansy aphids. *Ecological Entomology*, **42**, 389–401.
- Shik, J.Z., Kay, A.D. & Silverman, J. (2014) Aphid honeydew provides a nutritionally balanced resource for incipient Argentine ant mutualists. *Animal Behaviour*, **95**, 33–39.
- Skaug, H., Fournier, D., Nielsen, A., Magnusson, A & Bolker, B. (2014) *Package ‘glmmADMB’*. R package version 0.8.3.4. URL <http://glmmadmb.r-forge-project.org> [accessed on 30 January 2019].

- Stadler, B. & Dixon, A.F.G. (1998) Costs of ant attendance for aphids. *Journal of Animal Ecology*, **67**, 454–459.
- Stadler, B. & Dixon, A.F.G. (2008) *Mutualism: Ants and their Insect Partners*. Cambridge university press, Cambridge.
- Stanton, M.L. (2003) Interacting guilds: moving beyond the pairwise perspective on mutualisms. *The American Naturalist*, **162**, S10–S23.
- Styrsky, J.D. & Eubanks, M.D. (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 151–164.
- Tanner, C.J. (2006) Numerical assessment affects aggression and competitive ability: a team-fighting strategy for the ant *Formica xerophila*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **273**, 2737–2742.
- Tanner, C.J. (2008) Aggressive group behaviour in the ant *Formica xerophila* is coordinated by direct nestmate contact. *Animal Behaviour*, **76**, 1335–1341.
- Vantaux, A., Schillewaert, S., Parmentier, T., Van Den Ende, W.I.M., Billen, J. & Wenseleers, T.O.M. (2015) The cost of ant attendance and melezitose secretion in the black bean aphid *Aphis fabae*. *Ecological Entomology*, **40**, 511–517.
- Wilder, S.M., Barnum, T.R., Holway, D.A., Suarez, A.V. & Eubanks, M.D. (2013) Introduced fire ants can exclude native ants from critical mutualist-provided resources. *Oecologia*, **172**, 197–205.
- Wills, B.D., Chong, C.D., Wilder, S.M., Eubanks, M.D., Holway, D.A. & Suarez, A.V. (2015) Effect of carbohydrate supplementation on investment into offspring number, size, and condition in a social insect. *PLoS One*, **10**, e0132440.
- Wittman, S.E., O’Dowd, D.J. & Green, P.T. (2018) Carbohydrate supply drives colony size, aggression, and impacts of an invasive ant. *Ecosphere*, **9**, e02403.
- Yoo, H.J.S. & Holway, D.A. (2011) Context-dependence in an ant–aphid mutualism: direct effects of tending intensity on aphid performance. *Ecological Entomology*, **36**, 450–458.
- Zhang, S., Zhang, Y. & Ma, K. (2012) The ecological effects of the ant–hemipteran mutualism: a meta-analysis. *Basic and Applied Ecology*, **13**, 116–124.
- Zvereva, E.L., Lanta, V. & Kozlov, M.K. (2010) Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies. *Oecologia*, **163**, 949–960.

Accepted 29 May 2020

Associate Editor: Joshua King