



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVERSIDAD DE ESPECIES Y ASOCIACIÓN DE
PARASITOIDISMO EN LAS AVISPAS DE LA SUBFAMILIA
ROGADINAE (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) DE LA
ESTACIÓN DE BIOLOGÍA DE CHAMELA, JALISCO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

(B I O L O G O)

P R E S E N T A:

REINA GABRIELA AGUILAR VELASCO



DIRECTOR DE TESIS:
DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Aguilar
Velasco
Reina Gabriela
53071004
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306135424

2. Datos del tutor

Dr.
Alejandro
Zaldívar
Riverón

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Oscar Federico
Francke
Ballvé

4. Datos del sinodal 2

M. en C.
Roxana
Acosta
Gutiérrez

5. Datos del sinodal 3

Dr.
Gerardo Adolfo
Salazar
Chávez

6. Datos del sinodal 4

Dr.
Erick Alejandro
García
Trejo

7. Datos del trabajo escrito.

Diversidad de especies y asociación de parasitoidismo en las avispas de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) de la Estación de Biología de Chamela, Jalisco.
Número de páginas 67.
2013

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a mi director de tesis, el Dr. Alejandro Zaldívar Riverón por todo su apoyo.

A la Dra. Fadia Sara Ceccarelli por su apoyo en el laboratorio y en la edición de secuencias.

A mis abuelos, a mi madre a mi familia.

A todas aquellas personas que aportaron algo importante en apoyo para la realización de este trabajo: Martín de los Santos Crespo, Dr. Carlos Pedraza Lara, M. en C. Arturo García Gómez, Dr. Juan José Martínez y Dr. Scott. R. Shaw.

A todas las personas que colaboraron en la recolecta de material entomológico.

Y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por la beca otorgada durante la realización de este trabajo.

ÍNDICE

	Págs.
Resumen.....	6
I. Introducción	7
Generalidades morfológicas y anatómicas de los insectos.....	8
Orden Hymenoptera.....	10
Avispas parasitoides.....	12
Familia Braconidae.....	14
Subfamilia Rogadinae Foster, 1862.....	16
Sinopsis Taxonómica.....	20
<i>Aleiodes</i> Wesmael, 1838.....	20
<i>Triraphis Ruthe</i> , 1855.....	20
<i>Choreborogas</i> Whitfield, 1900.....	22
<i>Stiropius</i> Cameron, 1911.....	24
<i>Clinocentrus</i> Haliday, 1833.....	25
<i>Yelicones</i> Cameron, 1887.....	26
El código de barras del ADN.....	27
Uso del código de barras del ADN en Insecta.....	28
Justificación.....	31
II. Objetivos.....	32
III. Material y Métodos.....	33
Área de estudio.....	33
Recolecta de ejemplares.....	34
Identificación de material recolectado.....	36
Trabajo de Laboratorio.....	36
Delimitación de especies.....	38
IV. Resultados.....	40
Identificación de especies.....	40
Asociación de hospederos lepidópteros y avispas rogadas con la técnica AMAP.....	46
V. Discusión.....	52
Delimitación de especies.....	52
Riqueza de especies de la subfamilia Rogadinae.....	53
Asociación hospedero-parasitoide con la técnica AMAP.....	54
Importancia de las herramientas moleculares en el estudio de la Biodiversidad.....	58
VI. Conclusiones.....	59
VII. Referencias.....	60

Resumen

La subfamilia Rogadinae es un grupo de braconidos ciclóstomos que contiene cerca de 90 géneros y alrededor de 857 especies descritas. Las especies de Rogadinae son endoparasitoides koinobiontes de larvas de macrolepidópteros. Los miembros de esta subfamilia se caracterizan por el hábito de momificar los restos de las larvas de sus lepidópteros hospederos, por lo que la piel de la larva atacada se endurece y oscurece. En este trabajo se presentan los resultados de un estudio faunístico de las especies de rogadinos en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco, México, utilizando información morfológica y molecular [~658 pb del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI)]. Además, se analizó la asociación parasitoide-hospedero con el uso de una técnica molecular novedosa (AMAP) en la cual se obtiene un fragmento del gen COI del hospedero a partir del contenido estomacal del parasitoide adulto. En total, se identificaron seis géneros de rogadinos a partir de 92 ejemplares recolectados. Morfológicamente y molecularmente se identificaron 20 especies, y en total se reconocen 27 especies de manera preliminar para la región de estudio, de las cuales 20 son nuevas para la ciencia. El éxito en la amplificación de secuencias de hospederos lepidópteros fue del 20.6%. Las secuencias de ADN obtenidas a partir del contenido intestinal de las avispas sugieren que las especies de rogadinos recolectadas en la Estación de Chamela, Jalisco, podrían estar parasitando especies de lepidópteros de las familias Arctiidae, Noctuidae, Gelechiidae, Crambidae, Tortricidae, Elachistidae, Geometridae, Saturniidae, Erebidae, Pieridae y Lycaenidae.

Introducción

Los estudios sobre la diversidad biológica son importantes y necesarios para conocer la riqueza de especies, ecosistemas y procesos ecológicos, los cuales representan nuestro recurso natural y capital biológico. México es uno de los países que cuentan con mayor riqueza florística y faunística, así como con una gran variedad de ecosistemas, producto de su topografía compleja que le confiere relieves variados (Ochoa-Ochoa y Flores-Villela, 2006). Los estudios sobre la biodiversidad son indispensables en la realización de programas tanto de monitoreo como de evaluación ambiental, además de que nos permiten conocer mediante los inventarios faunísticos y bases de datos, taxonómicamente bien definidas, la gran diversidad biótica que nuestro país alberga. Los inventarios faunísticos son necesarios, dado que son herramientas básicas para conocer la situación actual de las especies de fauna silvestre y con base en ello diseñar políticas de estudio, protección y manejo adecuadas del ambiente.

La biodiversidad dentro y entre las especies está relacionada con la producción de la mayoría de los servicios de los ecosistemas. Así, el estudio de la biodiversidad sustenta una amplia variedad de bienes y servicios que proporcionan los ecosistemas forestales y agroforestales, incluyendo la prevención de la erosión del suelo, control de plagas, la polinización, el agua potable, los alimentos, la mitigación del cambio climático, el control de vectores de enfermedades, la resiliencia y la estabilidad de los ecosistemas locales, entre muchos otros (Thompson *et al.*, 2011). Debido a todo lo anterior, es importante proteger la biodiversidad, ya que su pérdida sería irreversible, pues una vez que las especies desaparecen jamás volverán a existir (Mittermier y Goettsch, 1992). En particular, los insectos con mucha frecuencia no son considerados en los estudios sobre conservación de áreas y organismos, pero es importante señalar que son parte de la estructura de la diversidad de la biósfera y que son el componente mayoritario de la biodiversidad de un territorio (Martín-Piera, 1997).

Los insectos representan entre un 75 y 80 % de las especies de animales que se estima habitan la Tierra. Están distribuidos en todo el planeta, asociados a otros animales y plantas, ocupando todo tipo de hábitats terrestres y están parcialmente adaptados a la vida acuática a excepción de las aguas submarinas (Apablaza, 2000). Su éxito adaptativo se debe a factores como (Daly *et al.*, 1998; Apablaza, 2000; Gullan y Cranston, 2010):

- ✓ Tamaño pequeño, que les permite vivir en cualquier hábitat.
- ✓ Presencia de un exoesqueleto liviano, resistente e impermeable que les protege del medio.
- ✓ Una gran capacidad reproductiva que les asegura sobrevivencia a pesar de su tasa de mortalidad alta.
- ✓ Son los únicos invertebrados alados, lo que les confiere facilidad de desplazamiento y la posibilidad de colonizar diversos hábitats (mayor vagilidad).
- ✓ Diversidad y especialización de estructuras tales como: a) las piezas bucales que les permiten alimentarse de cualquier material orgánico; b) formas de respiración que les permite vivir en agua y tierra; c) tipos de patas modificadas para diversas funciones.
- ✓ Diferentes estados de desarrollo que permiten a muchos insectos evitar la competencia intraespecífica por espacio y alimentos.
- ✓ Ciclos de vida cortos, por lo cual pueden adaptarse a condiciones ambientales cambiantes con mayor rapidez que otros animales.

Generalidades morfológicas y anatómicas de los insectos

El cuerpo de los insectos se divide en tres tagmas: cabeza, tórax y abdomen. La cabeza se encarga de las funciones nerviosas, sensoriales y de coordinación; tiene un par de antenas con funciones principalmente olfativas y táctiles; un par de ojos compuestos formados por unidades visuales denominadas omatidias; de uno a tres ocelos u ojos sencillos, empleados para la percepción de la intensidad luminosa; y un aparato bucal constituido por placas y apéndices articulados: el labro, las mandíbulas, las maxilas y el labio, las cuales presentan diversas modificaciones dependiendo del tipo de alimentación (Gullan y Cranston, 2010; Chapman *et al.*, 2012).

El tórax se encuentra especializado para la locomoción. Está formado por la unión o fusión de tres segmentos, cada uno de los cuales presenta un par de patas articuladas constituidas por cuatro artejos: la coxa, el trocánter, el fémur y la tibia, más un número variable de uno a cinco artejos pequeños que forman el tarso o la región tarsal. Las patas pueden modificarse en diferentes tipos: caminador, saltador, excavador,

nador, etc. El tórax también porta dos pares de alas bien desarrolladas en algunos órdenes, en tanto que en otros, solo se desarrolla uno de los pares, como estructura funcional para el vuelo y dependiendo del grado de endurecimiento de las alas mesotoraxicas, pueden formar élitros, tegminas o hemiélitros, e incluso en algunos órdenes las alas no se desarrollan (Moron y Terrón, 1988; Gullan y Cranston, 2010; Chapman *et al.*, 2012.).

Por último, el abdomen reúne las funciones digestivas, excretoras, reproductoras, circulatorias, etc. En el abdomen solo hay apéndices modificados como auxiliares para la cópula y la oviposición, los cuales se localizan en las proximidades de los orificios anal y genital (Moron y Terrón, 1988; Gullan y Cranston, 2010; Chapman *et al.*, 2012).

Los insectos presentan la organización interna típica de los artrópodos, donde destacan como características (Moron y Terrón, 1988; Klowden, 2007; Gullan y Cranston, 2010; Chapman *et al.*, 2012):

- ✓ Aparato digestivo constituido por tres partes: estomodeo, mesenterón y proctodeo, provisto de glándulas salivales pareadas.
- ✓ Sistema nervioso de tipo ganglionar escaleriforme en posición ventrolongitudinal, con dos masas ganglionares cefálicas: supra- y subesofágica.
- ✓ Cavidad secundaria del cuerpo integrada con la cavidad primaria e invadida por hemolinfa en la cual quedan inmersos todos los órganos.
- ✓ Aparato circulatorio abierto con el corazón en posición dorsolongitudinal, provisto de dos pares de ostiolas laterales y envueltas en una membrana pericárdica.
- ✓ Aparato respiratorio de tipo traqueal, comunicado con el exterior por medio de estigmas torácicos y abdominales.
- ✓ Ausencia de musculatura parietal, musculatura esquelética y visceral de tipo estriado.
- ✓ Aparato excretor construido por tubos de Malpighi, ubicados entre el mesenterón y el proctodeo.
- ✓ Aparato reproductor dioico, con los ovarios integrados por ovariolas.

Aunque únicamente alrededor de 200 especies de insectos son realmente plagas serias, actualmente se estima que el número de plagas potenciales ronda las 10,000 especies de insectos (1% del total de su diversidad conocida) (Martin-Piera, 1977).

Desde el punto de vista médico y veterinario los insectos pueden ser vectores de enfermedades graves, algunas incluso mortales como la malaria, el dengue, la Leishmaniasis, la enfermedad de Chagas, la enfermedad del sueño, etc., (Martin-Piera, 1977). Además de esto, los insectos juegan un papel importante en la mayor parte de los ecosistemas terrestres como predadores, parasitoides, recicladores de nutrientes y materia orgánica, polinizadores, alimento para otros animales, etc., razón por la que deben ser conservados (Losey y Vaughan, 2006).

Orden Hymenoptera

Conocidos comúnmente como abejas, avispas, hormigas y avispas sierra (Chapman *et al.*, 2012), el nombre Hymenoptera proviene del griego *Hymen* que significa membrana y *pteron* que significa ala (Ornosa y Ortiz-Sánchez, 2004). Presentan metamorfosis completa (huevo, larva, pupa y adulto) y la longitud de su cuerpo varía de 0.25 a 70 mm. Es uno de los cuatro órdenes megadiversos de insectos y contiene gran diversidad de insectos fitófagos, insectos sociales, abejas, avispas solitarias y avispas parasitoides (McGavin, 2002). Figura 1.



Figura 1. Ejemplos de organismos ampliamente conocidos pertenecientes al orden Hymenoptera:

A) Abeja (*Apis mellifera*); B) Avispa (*Vespa* sp.); C) Hormiga (*Atta* sp)

La cabeza de los himenópteros posee antenas filiformes con numerosos artejos, un par de ojos compuestos bien desarrollados y por lo normal tres ocelos dispuestos en forma triangular en la parte superior de la cabeza, piezas bucales masticadoras o modificadas formando una lengua para succionar líquidos debido a la fusión de las maxilas y el labio como en las abejas (Ornosa y Ortiz-Sánchez, 2004). Las especies que presentan alas son buenas voladoras con el meso- y metatórax alargados, con un par de alas membranosas unidas en el vuelo por una hilera de estructuras pequeñas en forma de gancho llamadas *hamulus* (plural: *hamuli*) localizadas en el borde anterior del ala posterior. Las alas anteriores tienen un pterostigma oscuro en el borde anterior y son más grandes que las alas posteriores. Los dos pares de alas presentan una venación reducida que forma celdas grandes y en algunas superfamilias como Chalcidoidea y Proctotrupeoidea la venación casi no existe (McGavin, 2002). Las patas caminadoras no suelen tener modificaciones, salvo en Dryinidae (Chrysodoidea) donde las patas anteriores de la hembra son prensoras. En las abejas obreras las patas posteriores están modificadas para transportar el polen (Rodríguez, 2007).

Los himenópteros tradicionalmente se han clasificado en dos subórdenes: Symphyta (Chalastogastra), el cual es parafilético y donde hallamos a los tentredínidos y afines, a veces llamados portasierras o avispa sierra; y Apocrita (Clistogastra), que es monofilético, y que a su vez se divide en dos infraórdenes: Parasitica y Aculeata (Wharton *et al.*, 1998; Gauld y Bolton, 1988). Los apócritos parasíticos presentan un ovipositor delgado y a veces muy alargado, usado para penetrar y depositar los huevos en otros insectos, mientras que los apócritos aculeados poseen un ovipositor modificado en forma de aguijón con una glándula de veneno asociada como defensa (Gauld y Bolton, 1988; McGavin, 2002).

El suborden Symphyta se caracteriza por tener el abdomen muy unido al tórax y no presentar una marcada reducción entre el primer y segundo segmento abdominal (Gauld y Bolton, 1988; Gillott, 2005). Las hembras poseen un ovipositor en forma de sierra para depositar los huevos en tejidos vegetales (McGavin, 2002). La larva, con forma de oruga, tiene una capsula cefálica bien desarrollada así como tres pares de patas en la región torácica y generalmente propatas en la región abdominal, aunque las especies que taladran los tejidos las han perdido. Se les puede separar de las larvas de los lepidópteros por no presentar ganchos, tienen ojos simples con una sola faceta, las

antenas son pequeños bultos muy simples y no con tres artejos como en las orugas de los lepidópteros (Ornosa y Ortiz-Sánchez, 2004).

En el suborden Apocrita, casi todos los adultos poseen el primer segmento abdominal llamado propodeo fusionado con el tórax y una constricción entre el primer y segundo segmento abdominal (peciolo) que le da la apariencia característica de la cintura de las avispas. A ésta estructura combinada se le denomina mesosoma en las avispas y abejas o alitrongo en las hormigas. El resto del abdomen hinchado se encuentra posterior al peciolo y se denomina gáster o metasoma. La presencia de una cintura en los apocritos aumenta enormemente la maniobrabilidad del abdomen y permite llevar el aguijón u ovopositor en cualquier posición, por debajo del cuerpo o incluso dirigirlo hacia delante. La larva es ápoda y tiene una reducción en la cápsula cefálica (Gillott, 2005), lo que se debe al estilo de vida, ya que se desarrolla a partir del huevo depositado en el interior del cuerpo de un insecto hospedero, o en el interior de una celdilla con alimento (McGavin, 2002).

Avispas parasitoides

Los parasitoides viven y se desarrollan a expensas de otros organismos; no son parásitos en sentido estricto, debido a que el hospedero nunca sobrevive al ataque de un parasitoide (McGavin, 2002). En otras palabras, las larvas de los parasitoides se alimentan del cuerpo de un hospedero, el cual eventualmente muere (Godfray, 1994). Ésta forma de vida es ventajosa y controla de manera eficiente las poblaciones de otras especies (McGavin, 2002; Wajnberg *et al.*, 2008). En general, los parasitoides son insectos voladores muy activos que localizan sus hospederos en cualquier hábitat guiándose por señales químicas, táctiles, fotosensoriales o termosensoriales. Los parasitoides presentan gran variedad de estrategias de vida y combinan un amplio espectro de hábitos alimenticios y tipos de hospederos (Campos-Moreno, 2001; McGavin, 2002).

Los parasitoides pueden ser idiobiontes o koinobiontes. Las larvas de los idiobiontes se alimentan sobre un hospedero, cuyo desarrollo se detiene, ya que antes de depositar los huevos, la hembra le inyecta un veneno que produce ese efecto y por lo tanto la larva parasitoide se alimenta de un recurso inmóvil e indefenso. Por esta razón

el hospedero generalmente es un artrópodo que vive en lugares protegidos o bien es transportado a un lugar oculto. Los koinobiontes por otra parte se alimentan dentro de un hospedero que continúa desarrollándose y alimentándose después de haber sido parasitado, y pasado un tiempo, el hospedero muere después de construir la cámara de pupación (Hanson y Gauld, 2006).

La mayor parte de las hembras parasitoides que depositan un solo huevo se aseguran que el hospedero sea un recurso suficiente para su descendencia. Algunas especies depositan muchos huevos, mientras que otras solo depositan un huevo poliembrionario de donde sale una gran cantidad de individuos. Algunas depositan sus huevos fuera del hospedero y las larvas del parasitoide en los primeros estadios entran en contacto con el hospedero, reptando hacia el (McGavin, 2002).

Familia Braconidae

Dentro del infraorden Parasitica se encuentra la superfamilia Ichneumonoide, la cual a su vez está compuesta por dos familias, Ichneumonidae y Braconidae (Campos-Moreno, 2001). Esta última con aproximadamente 19,434 especies reconocidas a la fecha (Yu *et al.*, 2012; Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2013). La familia Braconidae es la segunda más grande dentro de Hymenoptera después de Ichneumonidae, y en su mayoría son parasitoides de larvas de insectos exopterigotos (Quicke, 1997). Atacan principalmente larvas de lepidópteros, coleópteros y dípteros en diferentes estados de desarrollo, y la gran mayoría de especies tienen hospederos específicos (Campos-Moreno, 2001). También atacan homópteros, en particular áfidos, así como isópteros, psocópteros y a diferencia de Ichneumonidae, no parasitan arañas (Gillot, 2005). Los braconidos se han dividido en dos grupos, los ciclóstomos y los no ciclóstomos. La condición ciclóstoma se refiere, en la mayoría de los casos, a la presencia de un labrum cóncavo y el clípeo indentado. En los ciclóstomos, la porción ventral del clípeo está retraída y junto con el labrum cóncavo, a menudo sin pelos, forma una depresión redondeada arriba de las mandíbulas, mientras que en los no ciclóstomos, como su nombre lo indica, no presentan esta característica (Wharton *et al.*, 1998; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2006). Figura 2.

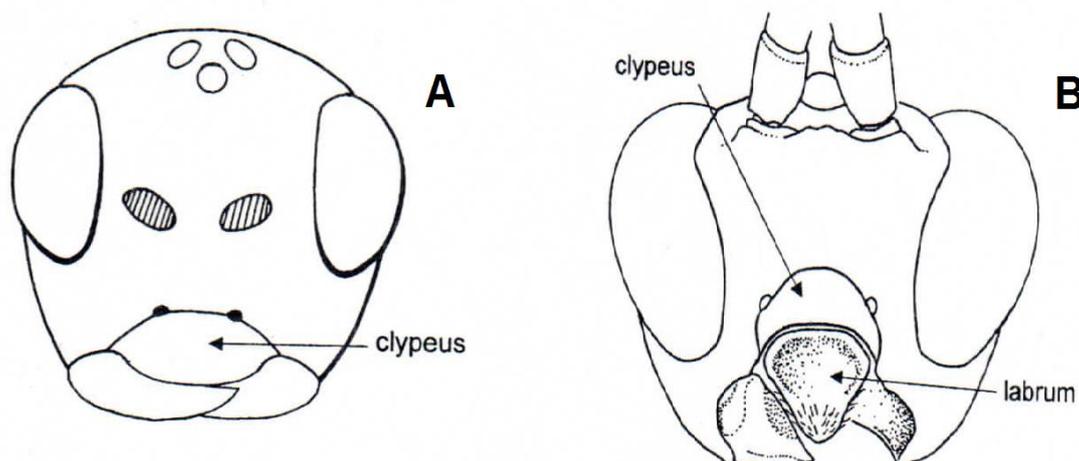


Figura 2: A) Condición no ciclostoma y B) Condición ciclostoma del clípeo y labrum cóncavo. Tomado de Wharton *et al.*, 1998.

La familia Braconidae, se distingue por medir de 1 a 14 mm de longitud (excluyendo las antenas y el ovopositor); antenas con 8 a 98 segmentos, flagelo usualmente filiforme, nunca geniculado, serrado o clavado; mandíbula bidentada, algunas veces exondonte con tres a siete dientes, vena 2m-cu del ala anterior generalmente ausente; vena 1/Rs+M del ala anterior presente; vena 1r-m del ala posterior basal a la separación de R1 y Rs; tergos metasomales 1 y 2 fusionados. (Campos-Moreno, 2001). Cuatro autapomorfías definen a la familia: (1) fusión metasomal de los tergos 2 y 3; (2) la pérdida funcional de los *hamuli* basales en la vena C del ala posterior; (3) la pérdida de un fragmento independiente de la vena C del ala posterior; y (4) la migración basal de la vena 1r-m del ala posterior, hacia la base de la separación de las venas R1 y RS. En muchos braconidos, la línea de sutura entre los tergos 2 y 3 es aún evidente, aunque no existe una unión flexible (Wharton *et al.*, 1998).
Figura 3.

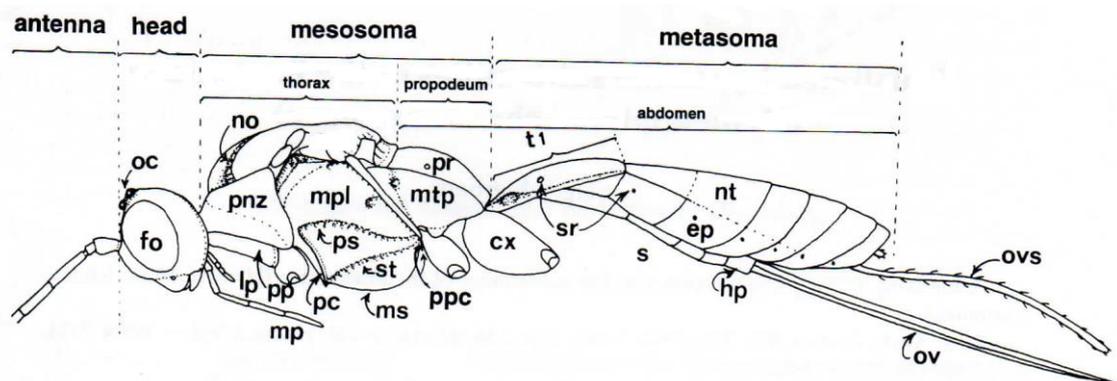


Figura 3: Esquema con nomenclatura de los elementos morfológicos de Braconidae: cx= coxa; ep= epipleuron; fo= ojo; hp= hipopigio; lp= palpo labial; mp= palpo maxilar; mpl= mesopleuron; ms= mesosternum; mtp= metapleuron; nt= notum; no= notauli; oc= ocelo; ov= ovipositor; ovs= vaina del ovipositor; pc= carina prepectal; pnz= pronotum; pp= propleuron; ppc= carina postpectal; pr= propodeum; ps= sulco precoxal; s= esternito;sr= espiráculos; st= esternalus; t1= terguito. Tomado de Achterberg 1993.

Los braconidos pueden ser ecto- o endoparasitoides, idiobiontes y/o koinobiontes (Godfray, 1994). Los ectoparasitoides se alimentan externamente de su hospedero y son en su mayoría idiobiontes, es decir, paralizan permanentemente a su hospedero. En contraste, los endoparasitoides se alimentan internamente de sus

hospederos y son koinobiontes, esto es: permiten al hospedero seguir viviendo hasta el final de su desarrollo (Godfray, 1994). Solo unas pocas especies recién descubiertas se conocen como fitófagas (Campos-Moreno, 2001; Wharton *et al.*, 2004).

Los ciclóstomos pueden ser tanto endo- como ectoparásitoides, mientras que los no ciclóstomos son exclusivamente ectoparasitoides. La especificidad del hospedero varía en la familia Braconidae, pero la mayoría de las especies tienen rangos relativamente estrechos de hospederos limitados debido a su capacidad de desarrollo o al microhábitat en el que las hembras buscan hospederos potenciales (Wharton *et al.*, 1998).

Las estrategias de parasitoidismo hacen que varias especies de braconidos sean utilizados como control biológico de plagas, además de jugar un papel muy importante en la regulación de poblaciones de insectos herbívoros nativos de bosques (Campos-Moreno, 2001; Wharton *et al.*, 1998). Dicha condición de vida confiere a los braconidos la cualidad de tener un gran potencial como indicadores de riqueza y estabilidad de los ecosistemas (Shaw y Hudleston, 1991). Asimismo, los braconidos se emplean ampliamente en modelos de interacción parasitoide-hospedero.

Subfamilia Rogadinae Foerster, 1862

La subfamilia Rogadinae es un grupo grande de braconidos ciclóstomos que contiene cerca de 90 géneros y alrededor de 857 especies descritas (Kula *et al.*, 2009). Las especies de Rogadinae son endoparásitoides koinobiontes, en su mayoría de larvas de macrolepidópteros, que se alimentan en lugares abiertos; aunque algunos también parasitan lepidópteros minadores de hojas (microlepidópteros). Los miembros de esta subfamilia son los únicos que presentan el hábito de momificar los restos de las larvas de lepidópteros (hospederos), en el que la piel de la larva hospedera se endurece y oscurece (Hanson y Gauld, 2006). Muchas especies de rogadinos momifican la larva de una sola especie de lepidóptero, siendo la mayoría solitarios y pupando en el interior del hospedero, su mayor actividad como adulto se lleva a cabo en la noche (Shaw en Wharton *et al.*, 1998).

En muchas especies de Rogadinae, la momificación del hospedero se produce en el último estadio larval por lo que posiblemente manipulen la fisiología del hospedero para inducir una metamorfosis prematura y la producción de la cutícula de la pupa mediante la destrucción de la glándula *corpora allatum*, impidiendo así la producción de la hormona juvenil del hospedero (Shaw en Wharton *et al.*, 1998). Las larvas de *Aleiodes* Wesmael, 1838 generalmente abren un agujero en el vientre del protórax del hospedero y por esa abertura pegan los restos del hospedero o la momia a una hoja, rama o retoño (Hanson y Gauld, 2006). Después, cuando los adultos emergen, abren otro agujero circular en el extremo posterior de la oruga momificada. A diferencia de *Aleiodes*, las especies de *Rogas* Nees, 1818 no adhieren la momia a ninguna parte y el agujero de salida se observa desgarrado e irregular; las especies de *Yelicones* Cameron, 1887 salen por el extremo posterior de la oruga momificada, pero en *Clinocentrus* Haliday, 1933 el agujero de salida se observa en el extremo anterior de la momia (Hanson y Gauld, 2006; Wharton *et al.*, 1998).

La subfamilia Rogadinae es un grupo numeroso, cosmopolita y bien representado en el Nuevo Mundo por cientos de especies potencialmente importantes debido a su posible uso como controladores biológicos de muchos lepidópteros, aunque aún no han sido estudiados con este enfoque (Shaw y Hudleston, 1991; Shaw, 1998). Actualmente, la subfamilia está dividida en cinco tribus: Aleiodini, Clinocentrini, Stiropiini, Yeliconini y Rogadini (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2008).

Aunque los rogadinos, especialmente los géneros *Aleiodes* y *Rogas*, son insectos relativamente comunes, existen pocos trabajos disponibles sobre ellos en el Neotrópico. Sin embargo, se les conoce un rango amplio de hospederos entre los cuales se encuentran las superfamilias Noctuoidea, Geometroidea y Sphingoidea. Las especies de *Stiropius* Cameron, 1911 y *Chorebogus* Whitfield, 1990 son numerosas en los neotrópicos, pero pueden pasar inadvertidas debido a su tamaño diminuto. Las especies más grandes de los géneros *Triraphis* Ruthe, 1855 y *Cystomastax* Szépligeti, 1904 son diversas en especial en el Neotrópico, sin embargo este último ha sido menos recolectado (Shaw, 1998).

Los géneros *Rogas* y *Aleiodes* han sido mal identificados y confundidos históricamente por los taxónomos debido a la falta de límites bien establecidos entre ellos. Achterberg (1991) redefinió y sinonimizó el género *Rogas* con el género

Pelecystoma (Wesmael, 1838), poniendo fin al traslape de *Rogas* con su grupo hermano *Aleiodes*. Al mismo tiempo, este autor resucitó al género *Triraphis*, el cual había sido previamente sinonimizado con *Rogas*.

Actualmente no hay un catálogo o revisión general sobre las especies neotropicales pertenecientes a *Rogas*, solo existen algunos registros y descripciones pobres, pero en muchos casos, son malas identificaciones del género *Aleiodes sensu* van Achterberg, por lo que al parecer el género *Rogas* no está presente en el Nuevo Mundo. En contraste, el género *Triraphis* es un grupo de distribución cosmopolita y solo existen ocho especies descritas para el Nuevo Mundo, dos para la región Neártica y seis para el Neotrópico (Valerio, 2006; Kula *et al.*, 2009).

Las especies de los géneros *Aleiodes* y *Triraphis* son más frecuentes en las recolectas, esto se debe a su gran riqueza de especies y a que incluyen a las especies de mayor tamaño. En el neotrópico, *Triraphis* es el género más abundante y rico en especies, comprendiendo más del 50% de la fauna rogadina en hábitats de bosques subhúmedos tropicales.

La monofilia de la subfamilia Rogadinae se apoya por una única sinapomorfía relacionada con la estrategia de parasitoidismo: la momificación de la larva hospedera (Figura 4A), aunque esto varía entre y dentro de las tribus (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2008). La sinapomorfía morfológica diagnóstica del grupo es la presencia de dos carinas antero-lateral dorsales del peciolo, que convergen cerca del extremo anterior del segmento, que continua como una sola carina media, hacia la parte posterior (Figura 4B) (Shaw y Huddleston, 1991; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2008); no obstante, esta característica está ausente en algunas especies de rogadinos.

Se propone que un endurecimiento débil o ligero de la momia hospedero es más probable que sea la condición ancestral del grupo y que producir una momia dura al parecer pudo haber evolucionado varias veces en linajes separados. El sitio anterior de emergencia en el hospedero momificado sería el estado ancestral más plausible, si Clinocentrini se confirma como el grupo hermano de las tribus restantes de Rogadinae. El grado de endurecimiento de la momia producida por las especies de Rogadinae podría además deberse a la necesidad de protección de la metamorfosis del parasitoides dentro del hospedero (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008).

Atacar hospederos microlepidópteros es una condición ancestral para Rogadinae. En el género *Aleiodes*, los clados más basales correspondientes al subgénero *Chelonorogas* Enderlein, 1912 no parecen ser ricos en especies y se restringen a atacar solo a Noctuidae (macrolepidópteros), mientras que los clados intermedios y derivados comprenden la mayor parte de la diversidad de las especies dentro del género y exhiben una amplia gama de hospederos, así como el uso especializado de taxones microlepidópteros como *Zygaena*, Fabricius, 1775 (Zygaenidae), *Ypsolopha* Latreille, 1796 (Ypsolophidae) y algunos Pterophoridae. Consecuentemente, el uso de microlepidópteros por *Aleiodes* parece ser secundario. (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008).



Figura 4: Características de la subfamilia Rogadinae. A) Momia de lepidóptero hospedero; se muestra el orificio de emergencia dorsal de la avispa *Aleiodes* sp. Tomado de Zaldívar- Riverón *et al.*, 2008; B) Carina media de *Aleiodes molestus* (Cresson, 1872).

Sinopsis taxonómica de los géneros de la subfamilia Rogadinae.

Aleiodes Wesmael, 1838. (Figura 5A y B). Tomado de Achterberg, 1991.

Aleiodes Wesmael, 1838; Shenefelt, 1975; Marsh, 1979; Papp, 1985; Shaw y Huddleston, 1991.

Petalodes Wesmael, 1838; Tobias, 1971; Shenefelt, 1975; Tobias 1976; Marsh 1979.

Heterogamus Wesmael, 1838; Tobias, 1971; Shenefelt, 1975; Tobias 1976; Achterberg, 1985; Tobias 1986.

Schizoides Wesmael, 1838.

Nebartha Walker, 1860; Shenefelt, 1975; Marsh, 1979.

Neorhogas Szépligeti, 1906; Shenefelt, 1975.

Chelonorhogas Enderlein, 1912; Shenefelt, 1975.

Leluthinus Enderlein, 1912; Shenefelt, 1975.

Aleirhogas Baker, 1917; Shenefelt, 1974.

Heterogamoides Fullaway, 1919; Shenefelt, 1975.

Hyperstemma Shestakov, 1940; Shenefelt, 1975.

Jirunia Malác, 1941; Shenefelt, 1975.

R(h)ogas Tobias 1971; Shenefelt, 1975; Tobias 1976; Marsh 1979; Tobias 1986.

Diagnosis: De 27 a 75 segmentos antenales, segmento apical con o sin espina; palpo maxilar y labial delgados, excepcionalmente ensanchados; carina hipostomal unida ventralmente con la carina occipital o reducida ventralmente; carina occipital variable, usualmente interrumpida medio-dorsalmente; vertex frontal liso o esculpido; sutura malar ausente; ojos evidentemente emarginados; depresión antescutal relativamente bien desarrollada; prosternum variable comparativamente amplio y curvado a poco evidente; carina prepectal completa; sulco precoxal ausente o presente; notauli variable, pudiendo ser parcialmente ausente; carina lateral del escutelo ausente o poco evidente; carina media del metanoto ausente o casi completa; areola propodeal ausente, a lo sumo con alguna carina; tubérculos propodeales usualmente ausentes, pero presentes en algunas especies; vena 1-SR del ala anterior variable; vena m-cu del ala delantera antefurcal recta, angulada con la vena 2-CU1 y convergiendo paralelamente con la vena 1-M posteriormente; vena r del ala anterior usualmente mediana, pero especies con una vena r grande son relativamente comunes; vena 3-SR del ala anterior casi tan larga como la vena 2-SR o mucho más larga; primera celda subdistal del ala anterior de

robusta a delgada, vena 1-CU1 horizontal, corta o larga; vena cu-a del ala anterior de corta a larga; vena M+CU1 del ala anterior usualmente ligeramente sinuosa; celda marginal del ala posterior variable, con bordes paralelos o ensanchada; vena 1r-m de larga a muy corta, oblicua; uñas tarsales sin lóbulo y setosas, en algunas especies también pectinadas; ápice de la tibia posterior sin peine distintivo de setas especializadas en el lado interno, muy excepcionalmente el peine puede presentarse; primer terguito con dorsope de grande a muy chico, carina dorsal unida y más o menos arqueada y terguito sin flange basal; segundo terguito con un área media basal triangular y una carina medio-longitudinal variable; segundo terguito y al menos la base del tercero con un pliegue lateral marcado, en algunas especies también el cuarto terguito puede tener un pliegue; hipopigio de la hembra mediano, ventralmente recto y apicalmente truncado.

Biología: Endoparasitoides de larvas de primeros estadios de Geometridae, Noctuidae; Notodontidae, Lasiocampidae, Pterophoridae, Lycaenidae, Zygaenidae, Hesperiiidae, Satyridae, Arctiidae, Lymantriidae, Drepanidae, Yponomeutidae, Limacodidae, Trortricidae, Oecophoridae, Lyonetiidae y Nymphalidae (Achterberg, 1991).

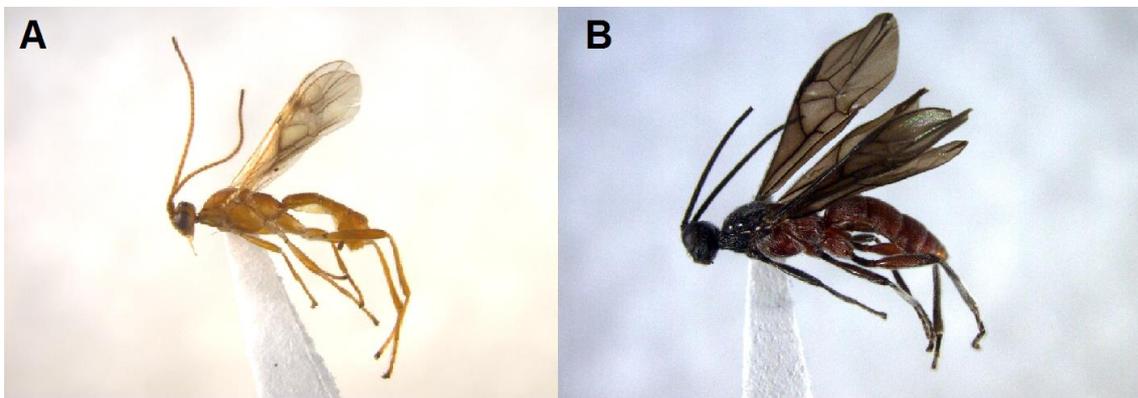


Figura 5: Especies pertenecientes al género *Aleiodes*: A) *Aleiodes* sp. 1 (cercano al grupo *dispar*) ♀ (CNIN1087); B) *Aleiodes molestus* ♂ (CNIN931)

Triraphis Ruthe, 1855 (Figura 6A y B). Tomado de Achterberg, 1991.

Triraphis Ruthe, 1855; Shenefelt, 1975.

Pelecystoma Tobias, 1971 y 1976; Marsh 1979.

Diagnosis: Segmentos antenales 33 a 43 en hembras, 23 en machos, segmento apical con espina; palpos maxilares y labiales no modificados; carina hipostomal no unida ventralmente a la carina occipital; carina occipital incompleta, ampliamente interrumpida dorsalmente, ventralmente ausente; vertex y frente lisos; clípeo aplanado, no sobresaliente y apicalmente abultado, sutura malar evidente; ojos evidentemente emarginados; depresión antescutal poco evidente; carina prepectal completa; surcos precoxales solo evidentes medialmente; notauli estrecho y conectado con una depresión corta media-posterior; carina media del metanoto corta; areola propodeal presente, pero rodeando la carina de forma débil e irregular; tubérculo propodeal ausente; vena 1-SR del ala anterior larga, unida con la vena 1-M; vena m-cu del ala anterior antefurcal, casi o ligeramente en contacto con la vena 2-CU1 y convergiendo posteriormente con la vena 1-M; vena r del ala anterior discontinua con los bordes posteriores del pterostigma; vena 3-SR del ala anterior más larga que vena 2-SR; primera celda subdiscal del ala anterior de tamaño medio, vena 1-CU1 corta; vena 1-SR+M del ala anterior ligeramente curva; vena cu-a del ala anterior subvertical, menos oblicua que vena 3-CU1; vena M+CU1 del ala anterior recta; celda marginal del ala posterior con lados paralelos; vena r-m del ala posterior corta y oblicua; membrana alar subhialina; uña tarsal con lóbulo; telotarso normal y delgado; tarso del macho normal, similar al tarso de la hembra, espinas de la tibia media y posterior setosas y rectas; ápice de la tibia posterior con peine distintivo de setas especiales en el lado interno; primer terguito con dorsope de tamaño medio, carina dorsal usualmente no unida, carina media presente y terguitos sin flanges basales; segundo terguito sin área triangular medio-basal y sin carina medio-longitudinal; segundo a sexto terguitos con un pliegue lateral marcado; hipopigio de la hembra grande, ventralmente recto y apicalmente truncado, vaina del ovipositor delgada; ovipositor casi recto (Achterberg, 1991).

Biología: Las especies de este género son endoparasitoides koinobiontes que pupan dentro de los restos momificados de larvas de lepidópteros de las familias Dalceridae, Limacodidae, Lycaenidae, Lymantriidae, Megalopygidae, Riodinidae,

Tortricidae y Zygaenidae (Achterberg, 1991). A diferencia de muchos rogadoinos, *T. harrisinae* no pega la momia de su hospedero a un sustrato (Kula *et al.*, 2009).

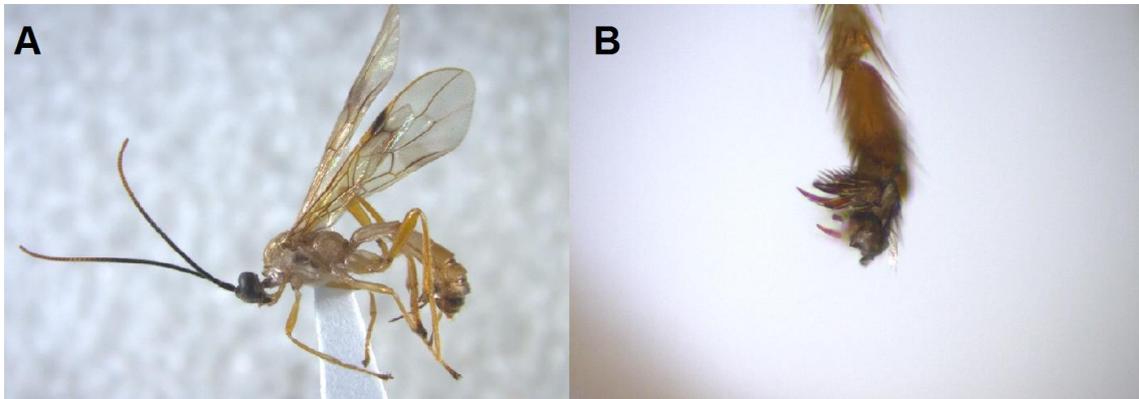


Figura 6. Especie perteneciente al género *Triraphis*: A) *Triraphis* sp. 4 ♀ (CNIN1246) y B) uña tarsal con lóbulo.

Choreborogas Whitfield, 1990 (Figura 7). Tomado de Achterberg, 1995.

Choreborogas Whitfield, 1990; Achterberg, 1991; Whitfield y Wargner 1971.

Diagnosis: Sutura malar visible; costula del propodeo ausente o corta; vena r-m del ala anterior ausente; segunda celda submarginal no cuadrangular presente; vena r del ala anterior iniciando cerca del tercio basal del pterostigma; vena CU1b del ala anterior ausente; sin diente ventral en el fémur posterior; fémur posterior más o menos hinchado; telotarso posterior comparativamente ancho; segundo y tercer terguitos distintivamente ensanchados posteriormente; hipopigio de la hembra de tamaño mediano y apicalmente truncado.

Biología: Las especies de este género son endoparasitoides solitarios de larvas de la familia Lyonettiidae (Achterberg, 1995).



Figura 7. *Choreborogas birostratus* ♀ (CNIN1211).

Stiropius Cameron, 1911 (Figura 8). Tomado de Achterberg, 1995

Stiropius Cameron, 1911; Whitfield, 1988; van Achterberg, 1991; Whitfield y Wargner 1991.

Bacculatriplex Viereck, 1912; Shenefelt, 1975; Whitfield, 1988; van Achterberg, 1991.

Viridipyge Whitfield, 1988, van Achterberg, 1991; Whitfield y Wargner 1991.

Diagnosis: Carina occipital dorsalmente completa o casi completa; sutura malar ausente, poco o muy evidente; vena SR1 del ala anterior recta o casi recta; vena 1-R1 de ala anterior casi tan larga como el pterostigma; vena r originada entre el tercio basal y la mitad del pterostigma; vena r-m del ala anterior presente y una segunda celda submarginal cuadrangular, rectangular o (sub)triangular; fémur posterior delgado o hinchado; la hembra de *S. prunicola* presenta un diente ventral en el fémur; telotarso delantero moderadamente ancho; segundo y tercer terguitos más o menos ensanchados posteriormente; hipogigio mediano o más bien grande y apicalmente agudo o romo.

Biología: Las especies de este género cuya biología se conoce, son endoparasitoides solitarios de Lyonettidae (Achterberg, 1995; Campos-Moreno, 2001).



Figura 8. Especie perteneciente al género *Stiropius* Cameron, 1911: *Stiropius eburis* (CNIN1259).

Clinocentrus Haliday, 1833 (Figura 9). Tomado de Achterberg, 1991.

Clinocentrus Haliday, 1833; Tobias, 1971; Shenefelt, 1975; Tobias, 1976; Marsh, 1979; Belokobobylskij y Tobias, 1986; Shaw y Huddleston, 1991.

Camptocentrus Kriechbaumer, 1894; Shenefelt, 1975; Marsh, 1979.

Microrhogas Cameron, 1910; Shenefelt, 1975.

Neorhyssalus Baker, 1917, Shenefelt, 1975.

Diagnosis: Segmentos antenales de 24 a 40, ápice del escapo subtrocante; palpo maxilar mediano y dividido en seis segmentos, ranura no conectada dorsalmente a los sulcos precoxales; propodeo con una areola irregular mediana; celda marginal del ala anterior grande, alcanzando el ápice del ala; segunda celda submarginal del ala anterior de tamaño mediano; primera celda subdiscal del ala anterior cerrada apicalmente; vena 3-M del ala anterior no esclerotizada; vena m-cu del ala anterior distalmente antefurcal; vena M+CU del ala posterior casi tan larga como la vena 1-M; espina externa de la tibia posterior distintivamente más larga que las setas que la rodean; carinas dorsales del primer terguito metasomal unidas hacia la parte posterior, formando un área triangular; segunda estructura metasomal de ligera a profundamente impresa; tercer terguito frecuentemente parcialmente con escultura transversa; cuarto terguito liso; vaina del ovipositor comparativamente larga.

Biología: Endoparasitoides preferentemente de larvas maduras de Tortricidae, Pyralidae, Momphidae, Choreutidae, Empermeniidae, Yponomeutidae y Oecophoridae; también están reportados para Noctuidae y Geometridae (Achterberg, 1991).



Figura 9. Especie perteneciente al género *Clinocentrus* Haliday, 1833: *Clinocentrus* sp. ♀ (CNIN1215).

Yelicones Cameron, 1887 (Figura 10). Tomado de Achterberg, 1995.

Yelicones Cameron, 1887; Togashi 1980; Papp 1985 y 1991; van Achterberg, 1991 y 1997; Belokobylskij, 1993; Quicke y Kruft, 1995; Quicke *et al.*, 1996 y 1997.

Pectenopi Fisher, 1961.

Rhopalotoma Cameron, 1911 (Chen y He, 1997).

Diagnosis: Presencia de cavidad oral ciclóstoma; mandíbulas con un tercer diente pequeño; alas posteriores con vena 2m-cu; segundo, tercer y cuarto segmentos tarsales muy cortos, telotarso alargado, basitarso posterior comprimido lateralmente; uñas pectinadas; ovipositor no o casi nunca expuesto (Quicke *et al.*, 1996).

Biología: Los hospederos conocidos para *Yelicones* solo están reportadas para dos especies: *Yelicones delicatus* (Cresson, 1872) (Fig. 10) que ha sido criada de seis géneros de pyralidos: *Caristanius decoloralis* (Walker, 1863), *Nephoteryx urinella* (Ragonot) (Marsh, 1979, *Psorosina hammondi* (Riley) (Muesebeck & Walkley, 1951), *Pococera baptisiella* (Fernald, 1887), *Salebria afficetella* Hulst o *Tetralopha melanogrammes* Zeller y *Tetralopha scabridella* Wolcott (1924) (Chen y He, 1997; Campos-Moreno 2001; Areekul y Quicke, 2006) y *Yelicones usae* de Costa Rica que se ha criado de larvas de *Omiodes cuniculalis* Guenée, 1854 (Crambidae) (Areekul y Quicke, 2006)

Las patas robustas altamente modificadas de *Yelicones* sugieren que éstas pueden ayudar a la penetración del capullo del hospedero donde depositan los huevos de una manera similar a la que se cree es utilizada por muchos ichneumonidos de la subfamilia Metopiinae de patas robustas (Areekul y Quicke, 2006).



Figura 10. Especie perteneciente al género *Yelicones* Cameron, 1887: *Yelicones delicatus* ♀ (CNIN1152).

El código de barras del ADN

En los últimos años, se ha propuesto emplear información de una porción de aproximadamente 650 pares de bases del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I (COI) en todas las especies vivientes y con condiciones de secuenciación universalmente aceptadas y estandarizadas como identificador universal (Hebert *et al.*, 2003a; Hajibabaei *et al.*, 2006a; Barber y Boyce, 2006). A esta iniciativa se la ha denominado código de barras del ADN (“DNA barcoding”). Este fragmento es empleado actualmente como herramienta de identificación y no pretende sustituir la taxonomía tradicional. Se ha demostrado que el uso de este marcador resuelve el 95% de las delimitaciones a nivel especie en distintos grupos de animales (Hebert *et al.*, 2003a, b). Para lograr una correcta delimitación de las especies evolutivas es preferible contar con secuencias de varios individuos a lo largo de su distribución geográfica, aunque también con otro tipo de evidencia, incluyendo secuencias de genes nucleares así como información morfológica y de otros aspectos biológicos (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010; Lanterí, 2007).

Actualmente es posible amplificar la región correspondiente al código de barras a pesar de la degradación del material genético debido al tiempo transcurrido desde la recolecta de algunos ejemplares en las colecciones científicas o por el tipo de preservación empleado. Mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por sus siglas en inglés (“polymerase chain reaction”), es posible amplificar fragmentos más pequeños del COI para obtener información (Hajibabaei *et al.*, 2006b) y así poder distinguir especies crípticas o pseudocrípticas cuando la morfología presenta limitaciones e imposibilita la identificación (Sáez y Lozano, 2005; Smith *et al.*, 2008).

El uso de este fragmento permite también conocer la variabilidad de las secuencias a niveles intraespecíficos e interespecíficos (Hajibabaei *et al.*, 2006a). Además, recientemente se demostró que en avispas parasitoides es posible secuenciar el ADN del hospedero a partir del contenido en el abdomen del parasitoide adulto (Rougerie *et al.*, 2010).

El código de barras ha sido ampliamente utilizado en varios taxones de animales. También otros marcadores genéticos han sido empleados como código de barras para

eucariotas distintos de los animales, en los cuales la determinación basada en morfología resulta particularmente difícil. Esto se debe a que en ciertos taxones los porcentajes de divergencia del COI son conservados, como en el caso de las plantas superiores. Asimismo, en varios grupos de animales, hongos y algas, el COI es insuficiente para distinguir especies ya que es demasiado conservado o debido a la ausencia de mitocondrias (Hebert *et al.*, 2003b; Moritz y Cicero, 2004; Lanteri, 2007).

Uso del código de barras del ADN en Insecta

En la clase Insecta, los estudios de código de barras han sido empleados ampliamente en particular dentro de Lepidoptera, permitiendo discriminar exitosamente un gran número de especies cercanas (Hebert *et al.*, 2003a). A continuación se describen algunos de los estudios más relevantes llevados a cabo para la delimitación de especies en lepidópteros:

En un estudio llevado a cabo para *Astrartes fuligator* (Walch, 1775) (Hesperiidae), considerada con amplia distribución en el Continente Americano, en diferentes tipos de vegetación y climas, se confirmó que esta “especie” representa en realidad un complejo de especies, en donde las divergencias moleculares halladas se relacionaron con distintas preferencias de hábitat o de alimentación de las larvas (Hebert *et al.*, 2004). En contraste, en *Saliana severus* (Herperiidae) el uso del código de barras comprobó que la gran diferenciación morfológica observada se debía a un dimorfismo sexual muy marcado y no a la presencia de dos especies distintas (Janzen *et al.*, 2005).

En otro trabajo, *Adelpha bredowii* Geyer, 1837 (Nymphalidae), considerada como un conjunto de subespecies, se observó que realidad se compone de tres especies válidas, *Adelpha eulalia* (Doubleday, [1848]), *A. bredowii* y *Adelpha californica* (Butler, 1865), las cuales fueron diferenciadas por caracteres morfológicos, genéticos y por su distribución geográfica (Prudic *et al.*, 2008).

El código de barras también ha sido ampliamente utilizado para la identificación de especies invasoras en Nueva Zelanda en organismos como polillas de las familia Tortricidae (*leafroller moth*) (Dugdale *et al.*, 2005) y Lymantriidae (*tussock moths*) (Armstrong *et al.*, 2003) que son plagas forestales.

En Hemiptera el género *Halobates* Eschscholtz, 1822 (Gerridae) fue objeto de estudio para genética de poblaciones con el objetivo de investigar la variación genética dentro de las cinco especies oceánicas y estimar la cantidad de flujo genético entre las poblaciones (Andersen *et al.*, 2000).

Con respecto a Diptera, entre los trabajos más representativos con códigos de barras se encuentra el estudio de Smith *et al.* (2006) con el género *Belvosia* (Tachinidae) en el Área de Conservación Guanacaste en Costa Rica. En este trabajo, los autores usaron el código de barras de ADN como herramienta para la identificación de especies a partir de la identificación de 20 morfoespecies de *Belvosia* Robineau-Desvoidy, 1830 criadas a partir de orugas (Lepidoptera). El código de barras discriminó un total de 32 especies altamente específicas en sus preferencias de hospederos. Otro ejemplo donde ha sido empleado para agilizar la identificación de especies plaga es el estudio en moscas de la fruta (Tephritidae) en Nueva Zelanda (Armstrong *et al.*, 1997).

En Hymenoptera, las hormigas y las avispas parasitoides han sido objeto de diversos estudios con el marcador del código de barras. En uno de ellos, Smith *et al.* (2005) compararon la diversidad de especies de hormigas de Madagascar basada en el código de barras con respecto a la diversidad conocida con base en taxonomía morfológica tradicional. Los autores concluyeron que el código de barras contribuye de manera importante a acelerar las identificaciones con fines de conservación de grupos hiperdiversos y no reemplaza ni compite con la taxonomía, sino que es un importante complemento de ella.

Con respecto a Braconidae, el trabajo más extenso es un estudio de diversidad de la subfamilia Microgastrinae que incluyó seis géneros presentes en el Área de Conservación Guanacaste en Costa Rica. El uso del código de barras en este grupo de avispas parasitoides arrojó un total de 313 especies de las 171 morfoespecies identificadas inicialmente, por lo que la información molecular arrojó 142 especies adicionales. Esta discordancia entre la evidencia morfológica y la molecular fue corroborada con datos de historia natural, los cuales apoyaron la delimitación de especies con el código de barras, indicando que existe un alto grado de especificidad de hospedero en este grupo de avispas (Smith *et al.*, 2008).

Fernández-Triana (2010) proporcionó una lista de 28 géneros y 225 especies de Microgastrinae de Canadá y Alaska lo cual aumentó en un 50% el número de especies de la región. Además, el autor halló nuevos registros de géneros y describió ocho especies, en donde incluyó datos del código de barras a partir de la revisión de ejemplares de la Colección Nacional de Insectos de Canadá. Smith *et al.* (2013) por otra parte presentaron los resultados de ocho años (2004-2011) de muestreo, examinando el código de barras en ejemplares de la subfamilia Microgastrinae a nivel global. Microgastrinae es el grupo mejor representado de himenópteros parasitoides en el Sistema Datos del Código de Barras de la Vida (BOLD; <http://www.boldsystems.org>), en donde actualmente existen más de 20,000 secuencias que comprenden a más de 1,700 especies de microgastrinos pertenecientes a 50 géneros (90% del total de géneros conocidos) y procedentes de 75 países.

En otro estudio con Braconidae, se investigó la riqueza de especies de la subfamilia Doryctinae presentes en la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, en el estado de Jalisco, México donde se reportaron 468 especímenes, asignados a 20 géneros y 185 especies (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010).

Justificación

El presente trabajo pretende conocer la diversidad de especies de la subfamilia Rogadinae en la estación de Biología Chamela, Jalisco, utilizando para ello información tanto morfológica como molecular (secuencias del locus del código de barras del ADN). Además, se pretende analizar la relación parasitoide-hospedero con el uso de la técnica de AMAP ("Análisis Molecular de Asociación de Parasitoides"; Rougerie *et al.*, 2010). Esta es una técnica novedosa que permite obtener ADN del hospedero a partir del contenido del abdomen de adultos de avispas parasitoides. Con esta técnica se puede obtener una secuencia de ADN diagnóstico que permite identificar el hospedero utilizado por estas avispas durante sus fases larvarias. A la fecha, son escasos los registros confirmados de las especies de hospederos lepidópteros que son parasitados por especies de la subfamilia Rogadinae. Debido a que para llegar a nivel específico en el conocimiento de los hospederos de rogadinos es necesario contar con una base de datos de referencia para especies de lepidópteros presentes en la región de Chamela, Jalisco, los resultados de este estudio representan una primera aproximación para conocer a los hospederos de los rogadinos examinados a un nivel taxonómico de familia o tribu.

Objetivos

General

- Conocer la riqueza de especies de la subfamilia Rogadinae en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco.

Particulares

- Determinar el número de géneros y especies la subfamilia Rogadinae presentes en la Estación de Biología Jalisco con base en evidencia morfológica y molecular (secuencias de ADN del locus del código de barras).
- Relacionar los hospederos parasitados por algunas de las especies de rogadinos mediante el uso de la técnica de AMAP ("Análisis Molecular de Asociación de Parasitoides").

Material y métodos

ÁREA DE ESTUDIO

En el estado de Jalisco, localizado en la costa del Pacífico mexicano se creó, en 1993 la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala (RBCC), la cual se encuentra en la zona intertropical y está delimitada por el río Cuixmala al sur y el ejido San Mateo al norte. Esta reserva abarca una superficie aproximada de 13,142 ha, dividida en cuatro zonas núcleo que comprenden el 80% de su extensión o lo que es equivalente a 8,208 ha y una zona de amortiguamiento de 4,934 ha. Comprende los terrenos de la Fundación Ecológica de Cuixmala A. C., la Universidad de Guadalajara, pequeños propietarios y una porción del ejido Rincón de Ixtán (Noguera *et al.*, 2002). Dentro de la reserva se encuentra la Estación de Biología Chamela del Instituto de Biología de la UNAM, la cual cuenta con una extensión de 1,600 ha y está localizada entre las coordenadas 19° 30' y 19° 33' de latitud norte y 105° 03' y 105° 01' de longitud oeste (Figura 11). La reserva es primordial para nuestro país debido a su gran extensión, diversidad de hábitats y estado de conservación, además de que representa ecosistemas extremadamente vulnerables de la costa de Jalisco (Ceballos y Miranda, 1986).



Figura 11. Ubicación geográfica de la reserva de la Biosfera Chamela Cuixmala.

La vegetación en la mayor parte del área es de 8 a 12m de altura, que se ramifica a baja altura y se clasifica como bosque tropical caducifolio o selva baja caducifolia. Este tipo de vegetación es denominado así porque pierde sus hojas durante un periodo de cinco a ocho meses del año, aunque la vegetación aledaña a los arroyos se clasifica como selva baja subcaducifolia (Rzedowski, 1978 en Hutto *et al.*, 1985; Noguera *et al.*, 2002). El bosque tropical caducifolio se caracteriza por su alta diversidad de flora, fauna y elevado número de especies endémicas (Durán *et al.*, 2002).

El clima en la región de Chamela es cálido subhúmedo (Aw_{0i}), con una temperatura media anual de 24.6°C (García, 1988). La oscilación térmica media mensual es de 4.3°C entre la temperatura del mes más caliente y el más frío por lo que el clima se considera isotermal. El promedio de la temperatura máxima anual es de 30°C y el promedio de la temperatura mínima es de 19.5°C con estacionalidad de periodos de lluvias de julio a octubre y de secas de noviembre a junio (Noguera *et al.*, 2002). La precipitación anual promedio es de 748 mm, pero puede variar de 400 a 1300 mm (Bullock, 1986). La humedad relativa de la atmósfera es de más del 65 % todo el año, por la fuerte influencia del mar (Noguera *et al.*, 2002).

RECOLECTA DE EJEMPLARES

Los materiales entomológicos de este estudio, son el fruto de tres años de trabajo de campo realizado con avispas braconíidas en la Estación de Biología de Chamela Jalisco. El material estudiado corresponde a muestreos efectuados entre los años 2009-2011. Se realizaron un total de 10 salidas con una duración de 5 a 10 días cada una. Las Técnicas de recolecta de material entomológico fueron las siguientes:

Trampa Malaise: Elaborada con tela fina similar a la de las redes aéreas (tul). Tiene forma de casa de campaña pequeña y se instala entre la vegetación en sitios donde puedan volar los insectos. Se amarra de sus extremos y se deja una entrada hacia alguna dirección. Por esta entrada se introducen los insectos volando, los cuales por lo general tienen la conducta de volar siempre hacia arriba al estar atrapados, por lo cual llegan a la parte alta de la trampa y se meten a un frasco colector que contiene alcohol etílico al 70% como líquido conservador. Es recomendable colocar la trampa alejada de caminos

donde pueda llegar a ser destruida. La recolección de las muestras es generalmente mensual, pero puede ser en periodos de tiempo regulares menores al mes.

Trampa de luz: Este tipo de trampas se utiliza en recolectas nocturnas y sirve para atraer insectos voladores con fototropismo positivo (Márquez, 2005). Una alta diversidad de insectos nocturnos es atraída a la luz, entre ellos varios de los más grandes, vistosos o llamativos. No se conoce con certeza por qué muchos insectos nocturnos son atraídos a la luz, pero se ha postulado que muchos de ellos se orientan en su vuelo tomando como referencia algún punto luminoso en el cielo, que puede ser la luna o las estrellas más cercanas a la tierra. La orientación es probablemente similar a la que tienen las abejas de la miel utilizando la posición del sol. Tal vez por ésta razón, es poco eficiente recolectar en noches con luna, ya que muchos organismos se orientarán con ella en lugar de ser atraídos a la trampa. La luz de tipo mercurial o luz negra es la que atrae mejor a los insectos (Márquez, 2005; Marshall, 1994).

La trampa de luz utiliza una variedad de herramientas y equipos, pero siempre con el mismo principio. Cuenta generalmente con un foco de luz que se conecta a una fuente de electricidad; el foco es colocado en la parte media o superior de una manta blanca extendida que actúa como reflector de la luz y es en ella donde se posan la mayoría de los insectos (Márquez, 2005; Marshall, 1994). De la manta y con ayuda de un aspirador entomológico se aspiraban todas las avispas, después se ponían en alcohol sin desnaturalizar al 96% para preservar el DNA.

Otras trampas de luz no usan sábanas blancas en el sistema, sino algún tipo de recipiente donde entran aquellos organismos que son atraídos. Ésta diferencia respecto a la forma mencionada antes permite hacer una recolecta no selectiva y sistemática de los organismos que son atraídos, ya que entran indistintamente al recipiente colector, los insectos fueron colectados en un recipiente grande con agua jabonosa después de pasar por una maya fina que solo permitía el paso de individuos de tamaño pequeño, con el fin de obtener entre ellos a las avispas rogadas. La trampa se dejaba toda la noche y se recogía a la mañana siguiente, se recolectaban todos los ejemplares y se lavaban con abundante agua antes de ponerlos en bolsas con alcohol al 96%

Es recomendable que los sitios para efectuar recolectas nocturnas carezcan preferentemente de otras fuentes luminosas que interfieran con la efectividad de la

trampa de luz y ésta debe dirigirse hacia los sitios más conservados desde un lugar relativamente abierto que permitirá una mejor dispersión de la luz (Márquez, 2005).

Trampas con platos amarillos (YPT o “yellow pan trap”): Se utiliza principalmente para coleccionar microhimenópteros. Consiste en poner una línea de platos amarillos a una distancia aproximada de 5-10 cm entre cada uno de ellos. A cada plato se le agrega una mezcla de agua con jabón u otro surfactante para romper la tensión superficial (Marshall, 1994). Los platos se dejan aproximadamente un día a nivel del suelo en zonas de hojarasca, para después recolectar los ejemplares y lavarlos con abundante agua antes de ponerlos en bolsas con alcohol al 96%.

IDENTIFICACIÓN DE MATERIAL RECOLECTADO

Para la determinación del material recolectado se utilizó la clave de identificación de géneros de Rogadinae del Nuevo Mundo de Shaw (1998), para las especies de los géneros recolectados se emplearon diferentes claves taxonómicas (Achterberg, 1995; Shaw *et al.*, 1997, 1998a, 1998b, 2006; Marsh y Shaw, 1998, 1999, 2001, 2003; y Areekul, 2006). Para el montaje se realizó la técnica de montaje indirecto, la cual consiste en pegar a las avispas en trocitos triangulares de cartón con una gota de pegamento soluble, y el alfiler se coloca atravesando dicho cartón (Márquez, 2005). Todos los ejemplares se encuentran depositados en La Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología de la UNAM. Cada uno de los ejemplares fue etiquetado con los datos de localidad y de identificación por ejemplar (CNINXXXX). Antes de que cada individuo fuera montado se extrajo su ADN genómico (ver siguiente sección).

TRABAJO DE LABORATORIO

La extracción del ADN genómico y la amplificación del fragmento genético correspondiente al marcador (COI) del código de barras se realizó en el laboratorio de Biología Molecular 1 en el Instituto de Biología de la UNAM. El ADN de las muestras de cada ejemplar se extrajo con el kit “Dneasy blood and tissue” (QIAGEN™). Para ello se utilizó una técnica no destructiva, que consiste en dejar al organismo en incubación a 55°C toda la noche en 100µl del buffer ATL de QIAGEN y 20µl de proteinasa K para digerir. Posteriormente, el ejemplar se remueve y el líquido se hace pasar a través de las columnas del kit siguiendo el protocolo incluido. Una vez removidos del buffer, los organismos fueron lavados dos veces con agua destilada y se

dejaron secar para posteriormente montarlos y etiquetarlos con los datos de recolecta y un código individual de secuencia de ADN.

Las amplificaciones del fragmento de ADN se prepararon en un volumen total de 15 μ l, el cual incluyó 1.5 μ l de 10 \times PCR buffer, 1.5 μ l de $MgCl_2$, 1.5 μ l 10 mM de dNTPs, 0.6 μ l 10 mM de cada primer, 0.1 μ l de polimerasa Platinum Taq (Invitrogen), 5 μ l de ADN molde y 4.2 μ l de agua destilada. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó usando los primers LCO (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') diseñados por Folmer *et al.* (1994) para el fragmento del COI correspondiente a las avispas, mientras que el fragmento de los hospederos lepidópteros se amplificó con los primers MLepR1, inicialmente llamado MH-MR1 (5'-CCTGTTCCAGCTCCATTTTC-3') (Hajibabaei *et al.*, 2006a) y LepF1 (5'-ATTCAACCAATCATAAAGATAT-3') (Hebert *et al.*, 2004). Este último par de primers amplifica un fragmento de aproximadamente 307pb de la región de código de barras exclusivamente para Diptera y Lepidoptera, mientras que para Hymenoptera tiene muy poca afinidad con los sitios de unión homólogos (Rougerie *et al.*, 2010).

Los programas de las PCRs fueron los siguientes: para las avispas se hizo un paso inicial de desnaturalización de 1 min a 94°C, seguido por 35 ciclos de 94°C durante 30 s, 40°C durante 45 s y 72°C durante 1 min y un paso final de extensión a 72°C durante 7 minutos. Para los lepidópteros un paso inicial de desnaturalización de 1 min a 94°C, seguido por 5 ciclos de 94°C durante 30 s, 45°C durante 40 s y 72°C durante 1 min, un paso de extensión final de 30 ciclos de 94°C durante 30 s y 55°C durante 40 s. Todos los productos de PCR sin purificar fueron enviados directamente a secuenciar a la Unidad de Genómica de Alto Rendimiento (High-Throughput Genomics Unit; <http://www.htseq.org>) de la Universidad de Washington en Seattle, Washington, EEUU. Todas las secuencias fueron editadas usando Sequencher 4.1.4 (Gene Codes Corporation) y alineadas manualmente a partir de su traducción a aminoácidos.

DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Una vez alineadas y editadas las secuencias de las avispa parasitoides, se compararon con las secuencias del COI disponibles en GenBank utilizando algoritmos BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool* (Altschul *et al.*, 1997). Para la delimitación de especies a partir de secuencias de ADN se emplearon dos criterios diferentes: el modelo general mixto de Yule y coalescencia “general mixed Yule-coalescent”: (GMYC); Pons *et al.*, 2006; Monaghan *et al.*, 2009) y el criterio de divergencia genética corregida del 2%, originalmente propuesto por Hebert *et al.* (2003a).

Las distancias genéticas corregidas se calcularon empleando el modelo de evolución de dos parámetros de Kimura (K2P; Kimura, 1980) con el programa PAUP* (Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods) versión 4.0b10 (Swofford, 2002). Las distancias corregidas para cada par de taxones terminales se visualizaron reconstruyendo un árbol de distancias mediante el método del vecino más cercano “Neighbour Joining” (NJ), el cual proporciona una representación gráfica de la divergencias entre las especies y con base a esto se obtiene el número de unidades taxonómicas con 2% o más de divergencia genética (Hebert *et al.*, 2003a; Smith *et al.*, 2008). Este enfoque ha demostrado ser una herramienta rápida y generalmente fiable para la identificación de las especies en la mayoría de los grupos de animales (Hebert *et al.*, 2003a y b; Hajibabaei *et al.*, 2007). A pesar de representar una herramienta rápida para obtener límites entre especies en la mayoría de los casos, este criterio es principalmente criticado principalmente debido a que asume que la tasa de sustitución del gen COI varía uniformemente con el tiempo en todos los taxones animales (Papadopoulou *et al.*, 2010).

El método GMYC se llevó a cabo reconstruyendo un árbol filogenético ultramétrico a través de un análisis Bayesiano con el programa BEAST versión 1.7.4 (Drummond *et al.*, 2012). Este análisis utilizó un reloj molecular relajado, esto es, que permitiera tasas de sustitución diferentes para las distintas ramas del árbol, usando una distribución lognormal y un modelo de evolución GTR + Γ + I (Lanave *et al.*, 1984). El análisis se ejecutó por 10 millones de generaciones, muestreando árboles cada 1000 generaciones. Se descartaron los primeros 5000 árboles muestreados como “burn-in” y se utilizaron los árboles restantes para reconstruir un árbol de máxima credibilidad con el parámetro “median heights” con la versión 1.7.4 del programa Tree Annotator

(Rambaut y Drummond, 2007). El árbol reconstruido se empleó para delimitar las especies utilizando el modelo de GMYC implementado en el paquete SPLITS “Species’ Limits by threshold statistics” (disponible en <http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>) utilizando el programa R versión 2.10.1 (R core Development Team 2009). Tanto para el análisis de NJ como para el análisis bayesiano, se empleó una secuencia perteneciente a un grupo externo (*Heterospilus* sp., Doryctinae) para enraizar los árboles.

Para la interpretación de las secuencias de los hospederos a partir del tracto digestivo de los parasitoides, todas las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias del COI que estuvieran disponibles en GenBank utilizando algoritmos BLAST (Altschul *et al.*, 1997). Se seleccionaron las cinco secuencias que resultaran genéticamente más similares a cada una de las secuencias potenciales de hospederos. Todas las secuencias obtenidas de esta forma y aquellas obtenidas del contenido abdominal de las avispas se alinearon en una matriz y fueron sujetas a un análisis de inferencia bayesiana siguiendo el mismo programa y parámetros empleados para el análisis bayesiano descrito previamente. El filograma resultante permitió determinar la ubicación filogenética de cada una de las secuencias obtenidas del contenido abdominal de las avispas adultas con respecto a las secuencias obtenidas en GenBank (Jurado-Rivera *et al.*, 2009). A partir de éstos análisis se propuso la probable ubicación taxonómica de cada secuencia de los hospederos a nivel de familia dentro de Lepidoptera y en algunos casos hasta género.

Resultados

Identificación de especies

Un total de 92 ejemplares pertenecientes a seis géneros de la subfamilia Rogadinae fueron identificados: *Aleiodes*, *Clinocentrus*, *Choreborogas*, *Stiropius*, *Triraphis* y *Yelicones*. De los 92 ejemplares utilizados para obtener material genético, se obtuvo ADN de 68, los 24 restantes, se identificaron solo con morfología siguiendo las claves apropiadas según el género.

En el Cuadro 1 se presenta una lista con las especies identificadas con la evidencia morfológica y con los dos métodos de delimitación de especies basados en secuencias de ADN. La evidencia morfológica permitió identificar 27 morfoespecies, siete de las cuales fueron asignadas a especies ya descritas: *Aleiode. atricornis* (Cresson, 1872); *Aleiodes cameronii* (Dalla Torre); *Aleiodes molestus* (Cresson, 1872); *Choreborogas. birostratus* Whitfield, 1990; *Stiropius eburis* Achterberg, 1995; *Yelicones delicatus* y *Yelicones plenus* Areekul & Quicke, 2006. Al mismo tiempo 20 representan especies nuevas para la ciencia. Cuatro de las especies nuevas, pertenecientes al género *Stiropius*, fueron identificadas solo con morfología, ya que no se pudieron obtener secuencias del COI.

Rogadinae	Secuencias	Ejemplares	2% divergencia	GMYC	Ev. morfológica
Aleiodes					
<i>A. molestus</i>	5	5	X	X	X
<i>A. atricornis</i>	2	2	X	X	X
<i>A. cf. cameronii</i> 1	1	1	X	X	X
<i>A. cf. cameronii</i> 2	2	2	X	X	
<i>A. sp. 1</i> cercano al grupo dispar	4	5(1)	X	X	X
<i>A. sp. 2</i> grupo gastritor cercano buoculus	2	2	X	X	X
<i>A. sp. 3</i> grupo seriatus cercano a pardalotus	1	1	X	X	X
<i>A. sp. 4</i> grupo gastritor	6	8(2)	X	X	X
<i>A. sp. 5</i> grupo apicalis.	3	5(2)	X	X	X
Total	26	31	9	9	8
Triraphis					
<i>T. sp. 1</i>	2	2	X	X	X
<i>T. sp. 2</i>	2	3(1)	X	X	X
<i>T. sp. 3</i>	3	4(1)	X	X	
<i>T. sp. 4</i>	4	4	X	X	X
<i>T. sp. 5</i>	2	2	X	X	X
<i>T. sp. 6</i>	4	4	X	X	
<i>T. sp. 7</i>	1	2(1)	X	X	
<i>T. sp. 8</i>	1	1	X	X	X
Total	19	20	8	8	5
Stiropius					
<i>S. eburis</i>	1	3(2)	X	X	X
<i>S. sp. 1</i> similar <i>eburis</i> .	3	4(1)	X	X	X
<i>S. sp. 2</i> similar <i>infuscatus</i>	1	1	X	X	X
<i>S. sp. 3</i>	1	1	X	X	X
<i>S. sp. 4</i>	0	(1)	-	-	X
<i>S. sp. 5</i> similar <i>huggerti</i> .	0	(1)	-	-	X
<i>S. sp. 6</i>	0	(1)	-	-	X
<i>S. sp. 7</i> similar <i>longicarinatus</i>	0	(1)	-	-	X
Total	6	13	4	4	8
Choreborogas					
<i>C. birostratus</i>	3	4(1)	X	X	X
<i>C. aff. Birostratus</i>	5	13(8)	X	X	X
Total	8	17	2	2	2
Clinocentrus					
<i>C. sp. 1</i>	2	2	X	X	X
<i>C. sp. 2</i>	1	1	X	X	X
Total	3	3	2	2	2
Yelicones					
<i>Y. delicatus</i>	4	4	X	X	X
<i>Y. plenus</i>	2	2	X	X	X
Total	6	6	2	2	2
Gran Total	68 sec.	92 ejempl.	27 spp	27 spp	27

Cuadro 1: Lista de géneros, número de secuencias y número de especies identificados para la subfamilia Rogadinae morfológica y molecularmente de la Estación de Biología Chamela, Jalisco. Entre paréntesis el número de ejemplares asignados a esta especie solo con base en evidencia morfológica.

Los dos métodos empleados para la delimitación de especies con base en secuencias de ADN permitieron identificar 27 especies a partir de las 68 secuencias generadas. El cuadro 2 muestra las distancias genéticas corregidas que se obtuvieron para las 27 unidades taxonómicas resultantes del criterio de 2% de distancia para definir especies. Además, en las figuras 12 y 13 se presentan tanto el fenograma como el filograma reconstruidos con los métodos de NJ y bayesiano, respectivamente, ambos indicando las especies delimitadas.

Las distancias genéticas interespecíficas en *Aleiodes* variaron de 10.07 a 24.07%, mientras que para las especies de *Triraphis* variaron desde 3.34 hasta 10.66%. Con respecto a *Stiropius*, la variación interespecífica fue de 9.74 a 14.23%. Por último, las distancias interespecíficas variaron de 9.4 a 19.36% en *Yelicones*, de 10.59 a 16.66% en *Choreborogas* y de 14.79 a 15.01% en *Clinocentrus*. El cuadro 2 muestra las distancias genéticas corregidas (modelo de evolución K2P) inter e intraespecíficas para los seis géneros de Rogadinae examinados en el presente estudio.

ALEIODES									
	<i>A. molestus</i>	<i>A. sp. 1</i>	<i>A. sp. 2</i>	<i>A. sp. 3</i>	<i>A. sp. 4</i>	<i>A. sp. 5</i>	<i>A. cf. cameronii 1</i>	<i>A. cf. cameronii 2</i>	<i>A. atricornis</i>
<i>A. molestus</i>	0.34-0.69%	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. sp. 1</i>	14.55-15.4%	0-0.34%	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. sp. 2</i>	15.88-17.01%	13.09-14.17%	0.51%	-	-	-	-	-	-
<i>A. sp. 3</i>	19.82-20.29%	18.21-18.44%	20.6-20.85%	-	-	-	-	-	-
<i>A. sp. 4</i>	14.52-15.38%	14.71-14.94%	17.35-18.09%	12.95-13.15%	0%	-	-	-	-
<i>A. sp. 5</i>	23.83-24.07%	22.65-22.88%	22.95-23.23%	21.26-21.49%	19.20-19.44%	0-0.17%	-	-	-
<i>A. cf. cameronii 1</i>	17.77-18.39%	16.2-16.41%	18.49-19.18%	17.32%	14.09%	16.18-16.37%	-	-	-
<i>A. cf. cameronii 2</i>	19.04-19.97%	20.12-20.13%	22.53-22.81%	18.36-18.79%	17.25-17.68%	15.76-16.39%	10.07-10.27%	0.86%	-
<i>A. atricornis</i>	14.52-15.61%	11.16-11.73%	10.9-11.65%	19.42-19.63%	17.53-17.84%	22.67-23.46%	17.55-17.65%	19.75-20.34%	0.39%
TRIRAPHIS									
	<i>T. sp. 1</i>	<i>T. sp. 2</i>	<i>T. sp. 3</i>	<i>T. sp. 4</i>	<i>T. sp. 5</i>	<i>T. sp. 6</i>	<i>T. sp. 7</i>	<i>T. sp. 8</i>	
<i>T. sp. 1</i>	0.86%	-	-	-	-	-	-	-	
<i>T. sp. 2</i>	8.71-9.29%	1.21%	-	-	-	-	-	-	
<i>T. sp. 3</i>	9.09-9.87%	2.99-4.45%	0.86-1.74%	-	-	-	-	-	
<i>T. sp. 4</i>	8.90-10.06%	6.06-7%	6.25-7.38%	0-0.52%	-	-	-	-	
<i>T. sp. 5</i>	9.09-9.68%	7.75-7.94%	7.56-8.52%	8.51-8.90%	0	-	-	-	
<i>T. sp. 6</i>	9.29-9.68	7.94-8.52%	8.52-9.49%	8.70-9.28%	3.34-3.52%	0-0.52%	-	-	
<i>T. sp. 7</i>	10.07-10.67%	8.34-8.72%	8.13-8.91%	8.7-9.09%	3.71%	3.34-3.52%	-	-	
<i>T. sp. 8</i>	10.27-10.47%	10.46-10.66%	10.07-11.06%	10.06-10.45%	8.52%	8.14-8.52%	9.1%	-	
STIROPIUS									
	<i>S. sp. 1</i>	<i>S. sp. 2</i>	<i>S. sp. 3</i>	<i>S. eburis</i>					
<i>S. sp. 1</i>	0.52-1.04%	-	-	-					
<i>S. sp. 2</i>	13.99-14.23%	-	-	-					
<i>S. sp. 3</i>	13.48-13.69%	9.74%	-	-					
<i>S. eburis</i>	13.91-14.54%	14.15%	14.09%	-					
YELICONES									
	<i>Y. plenus</i>	<i>Y. delicatus</i>							
<i>Y. plenus</i>	0.34%	-							
<i>Y. delicatus</i>	16.66-19.36%	0.34-0.69%							
CHOREBOROGAS									
	<i>C. birostratus</i>	<i>C. aff. birostratus</i>							
<i>C. birostratus</i>	0.69-1.7%	-							
<i>C. aff. birostratus</i>	9.4-10.59%	0-0.86%							
CLINOCENTRUS									
	<i>C. sp. 1</i>	<i>C. sp. 2</i>							
<i>C. sp. 1</i>	0.52%	-							
<i>C. sp. 2</i>	14.79-15.01%	-							

Cuadro 2: Distancias genéticas corregidas (modelo de evolución K2P) inter- e intraespecíficas para los seis géneros de Rogadinae examinados en el presente estudio.

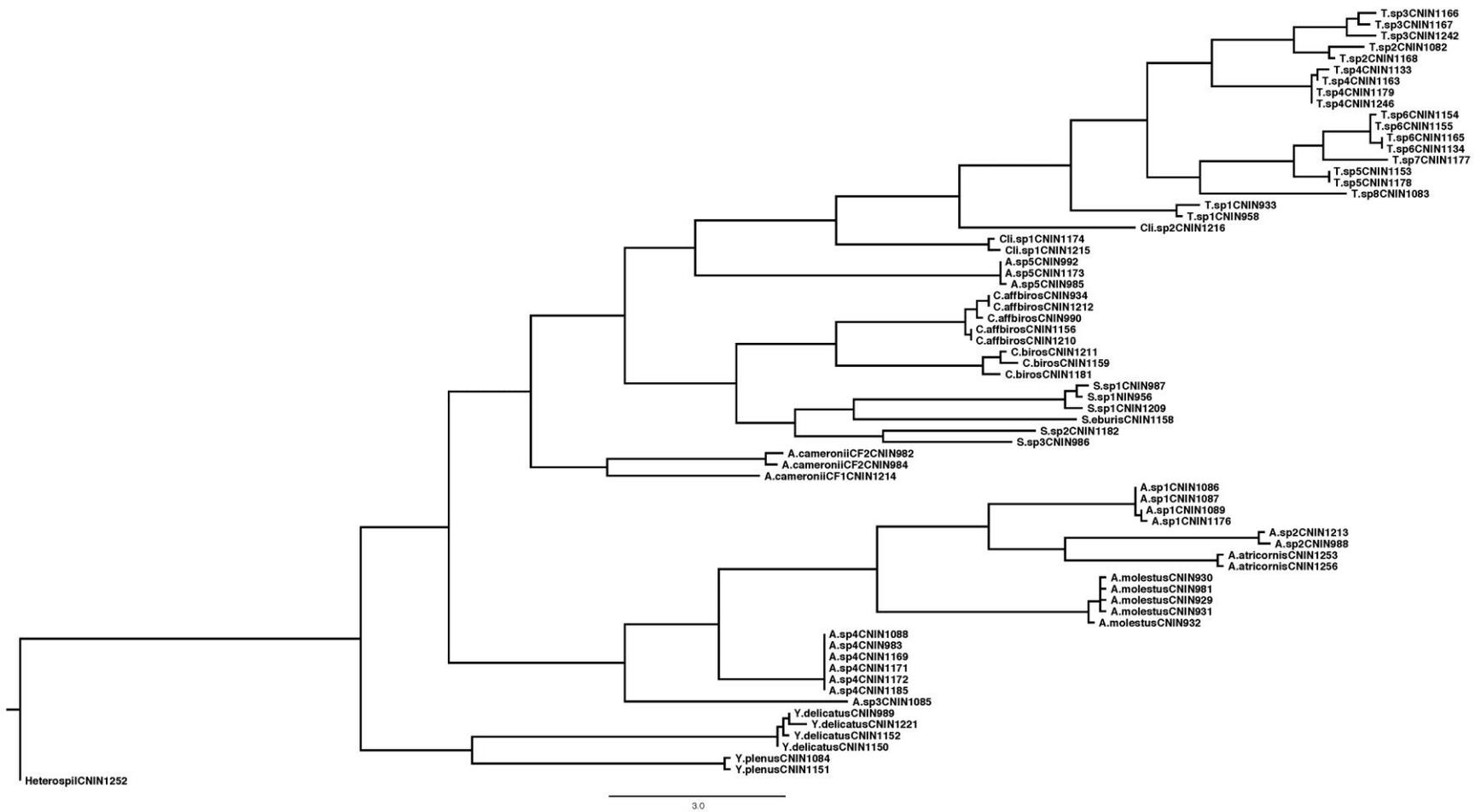


Figura 12. Árbol de distancias obtenido con el método de neighbour joining (NJ) en donde se muestran gráficamente las distancias genéticas entre los taxones terminales (3.0 = porcentaje de divergencia genética).

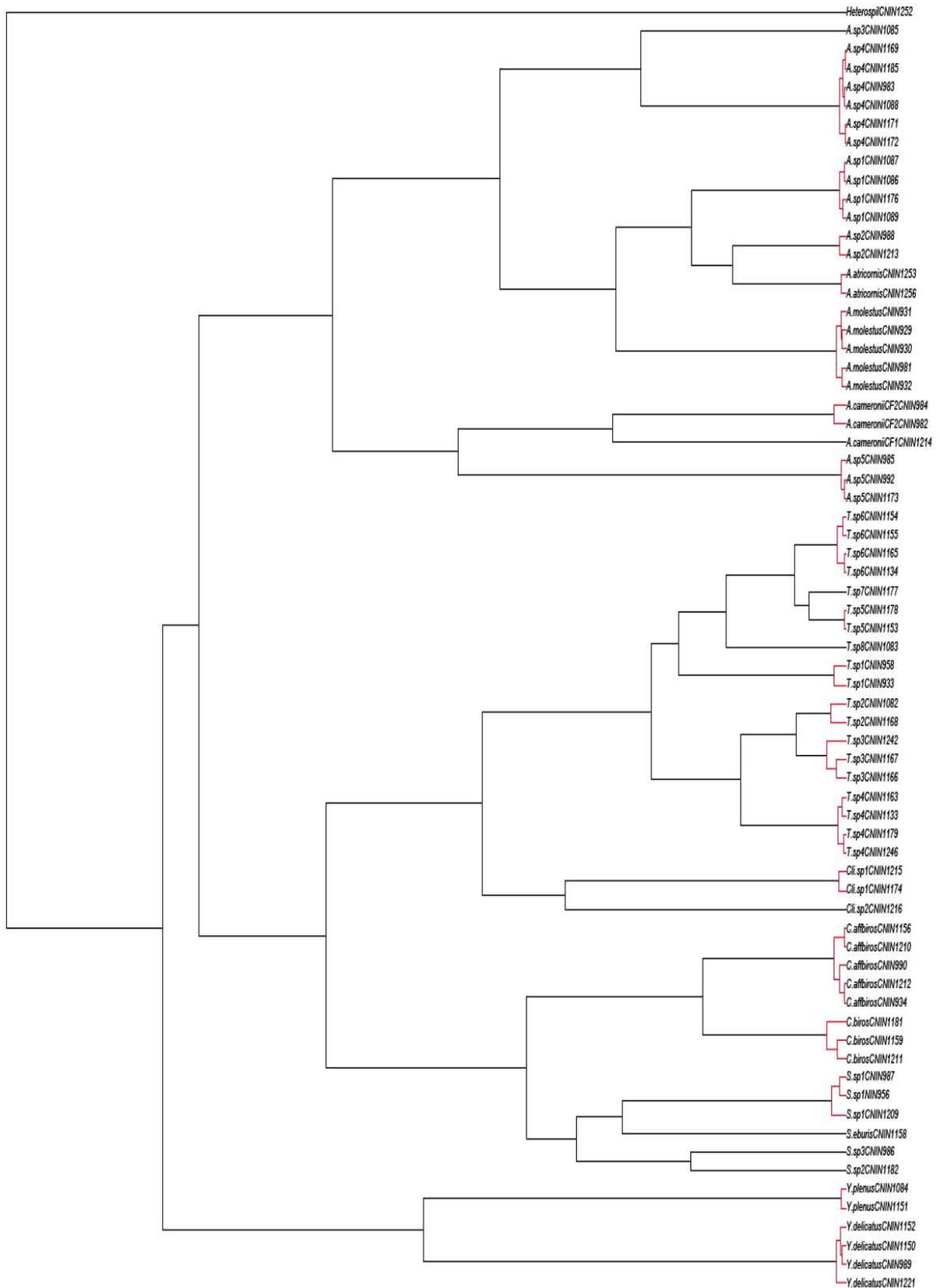


Figura 13: Árbol ultramétrico mostrando la delimitación de especies con el método de GMYC de miembros de la subfamilia Rogadinae presentes en la estación de Biología de Chamela, Jalisco. Los clados marcados en rojo, corresponden a especies conformadas por grupos de secuencias, las ramas terminales en negro corresponden a especies representadas por una sola secuencia.

Un total de 20 especies (74.1%) fueron congruentes entre las identificaciones realizadas con morfología y los dos métodos de delimitación de especies usando secuencias de ADN. Entre estas especies se encontraron siete especies de *Aleiodes*, tres de *Triraphis*, cuatro de *Stiropius*, dos de *Clinocentrus*, dos de *Choreborogas* y dos de *Yelicones* (Cuadro 1).

Tres casos de incongruencia fueron encontrados en las identificaciones realizadas con base en morfología y los dos métodos de delimitación de especies usando secuencias de ADN. Uno de estos casos correspondió al género *Aleiodes*, en donde la identificación morfológica obtuvo ocho especies (una menos que con evidencia molecular) debido a que los individuos asignados a *A. cameronii* se separaron en dos unidades taxonómicas con los dos métodos basados en secuencias de ADN. En el género *Triraphis* se delimitaron ocho especies con la evidencia molecular, mientras que morfológicamente solo fue posible distinguir cinco, de estas cinco especies, las denominadas T. sp. 2, y T. sp. 3 se agrupan como una sola. De igual manera las especies T. sp. 5, T. sp. 6 y T. sp. 7 son morfológicamente idénticas por lo que corresponderían a una sola especie morfológicamente.

Asociación de hospederos lepidópteros y avispas rogadas con la técnica de AMAP

A partir de las extracciones de ADN de 68 ejemplares, se obtuvieron 31 secuencias de los hospederos (contenido en los parasitoides adultos), 25 de las cuales corresponden a varias especies de lepidópteros de acuerdo con las comparaciones realizadas con la aplicación BLAST incluida en la página del GenBank. Las seis secuencias restantes corresponden a diferentes especies del orden Diptera y por lo tanto fueron descartadas de los análisis subsecuentes debido a que representan posibles contaminantes. Por lo tanto, el 36.8% de las amplificaciones realizadas con la técnica de AMAP fueron exitosas para lepidópteros. En los análisis finales, se incluyeron 109 secuencias obtenidas de GenBank; la matriz de datos incluyó un total de 134 taxones, y 404 posiciones nucleotídicas.

Del total de secuencias obtenidas, sólo 14 secuencias fueron informativas (20.6%), las cuales correspondieron a cinco de los seis géneros encontrados en este estudio; el resto de las secuencias (9 secuencias) quedaron aisladas con respecto a las secuencias de lepidópteros obtenidas del GenBank. El género *Aleiodes* tuvo el mayor

número de secuencias generadas para hospederos con nueve secuencias, seguida por *Stiropius* con dos secuencias y *Choreborogas*, *Yelicones* y *Triraphis* con una secuencia cada uno (Cuadro 3).

Rogadinae	RESULTADO BLAST	Divergencia genética
<i>Aleiodes</i>		
A. sp. 2 CNIN1213	Noctuoidea - Arctiidae - Noctuidae Gelechioidea - Gelechiidae - Gelechiinae	4.7-6.03% 4.35% 6.02%
A. sp. 4 CNIN1171	Pyraloidea - Crambidae - Spilomelinae	3.63-4.19%
CNIN1088	Tortricoidea - Tortricidae Gelechioidea - Elachistidae	5.41% 6.37%
A. sp. 5 CNIN1175	Geometroidea - Geometridae - Ennominae - Larentiinae	3.88% 2.93-5.46%
A. cf <i>cameronii</i> 1 CNIN1214	Noctuoidea - Noctuidae - Notodontidae	6.34-5.08% 5.83%
A. cf. <i>cameronii</i> 2 CNIN982	Pyraloidea - Crambidae Gelechioidea - Gelechiidae	3.4-4.4% 4.35-4.67%

<i>A. molestus</i> CNIN930	Bombycoidea - Saturniidae Noctuoidea - Noctuidae	3.58-5.19% 3.85%
CNIN981	Noctuoidea - Noctuidae Bombycoidea - Saturniidae - Saturniinae	3.88-6.71% 3.25-3.74%
CNIN931	Geometroidea - Geometridae - Ennominae - Sterrhinae	5.54-7.57% 6.31%
<i>Stiropius</i>		
<i>S. sp. 1</i> CNIN956	Noctuoidea - Arctiidae - Noctuidae Gelechioidea - Gelechiidae - Gelechiinae	3.76-4.44% 3.95% 4%
<i>S. sp. 2</i> CNIN1182	Gelechioidea - Gelechiidae - Gelechiinae Noctuoidea - Noctuidae - Euteliinae	2.25-6.17% 3.16-5.13%
<i>Yelicones</i>		
<i>Y. delicatus</i> CNIN1221	Noctuoidea - Arctiidae - Noctuidae Gelechioidea - Gelechiidae - Gelechiinae	4.57-4.87% 2.6% 4.28%

<i>Choreborogas</i>		
<i>C. aff. birostratus</i> CNIN1156	Noctuoidea	
	- Noctuidae	5.47%
	- Erebidae	5.13-7.17%
	Papilionoidea	
	- Pieridae	7.81%
<i>Triraphis</i>		
<i>T. sp. 4</i> CNIN1163	Pyraloidea	
	- Crambidae	6.57%
	Noctuoidea	
	- Noctuidea	5.19%
	Papilionoidea	
	- Lycaenidae	7.1%

Cuadro 3: Especies de Rogadinae de las cuales se obtuvieron secuencias con la técnica de AMAP, las tribus y/o familias de Lepidoptera resultado de la comparación con la aplicación BLAST, las divergencias genéticas y el tipo de trampa con el que se recolectaron las avispas rogadas .

El filograma reconstruido para los hospederos de los ejemplares de Rogadinae es demasiado grande y por lo tanto no se incluye de manera completa, únicamente se presentan los clados en donde se anidaron las 14 secuencias incluidas que fueron generadas con la técnica de AMAP, Figura 14.

De acuerdo con la topología resultante, las secuencias de AMAP derivadas de las especies de *Aleiodes* se encuentran anidadas en clados que contienen especies de lepidópteros de las familias Arctiidae, Noctuidae, Gelechiidae, Crambidae, Tortricidae, Elachistidae, Geometridae y Saturniidae. Las secuencias de AMAP derivadas de las especies de *Stiropius* se anidaron en clados conteniendo secuencias de Arctiidae, Noctuidae y Gelechiidae, mientras que para *Choreborogas* sus secuencias se anidaron en clados con secuencias de Noctuidae, Erebidae y Pieridae. Por otra parte, la secuencia derivada de *Yelicones* se anidó en un clado con secuencias de Arctiidae, Noctuidae y Gelechiinae, y la secuencia derivada de *Triraphis* se encontró en un clado junto con secuencias de Crambidae, Noctuidae y Lycaenidae.

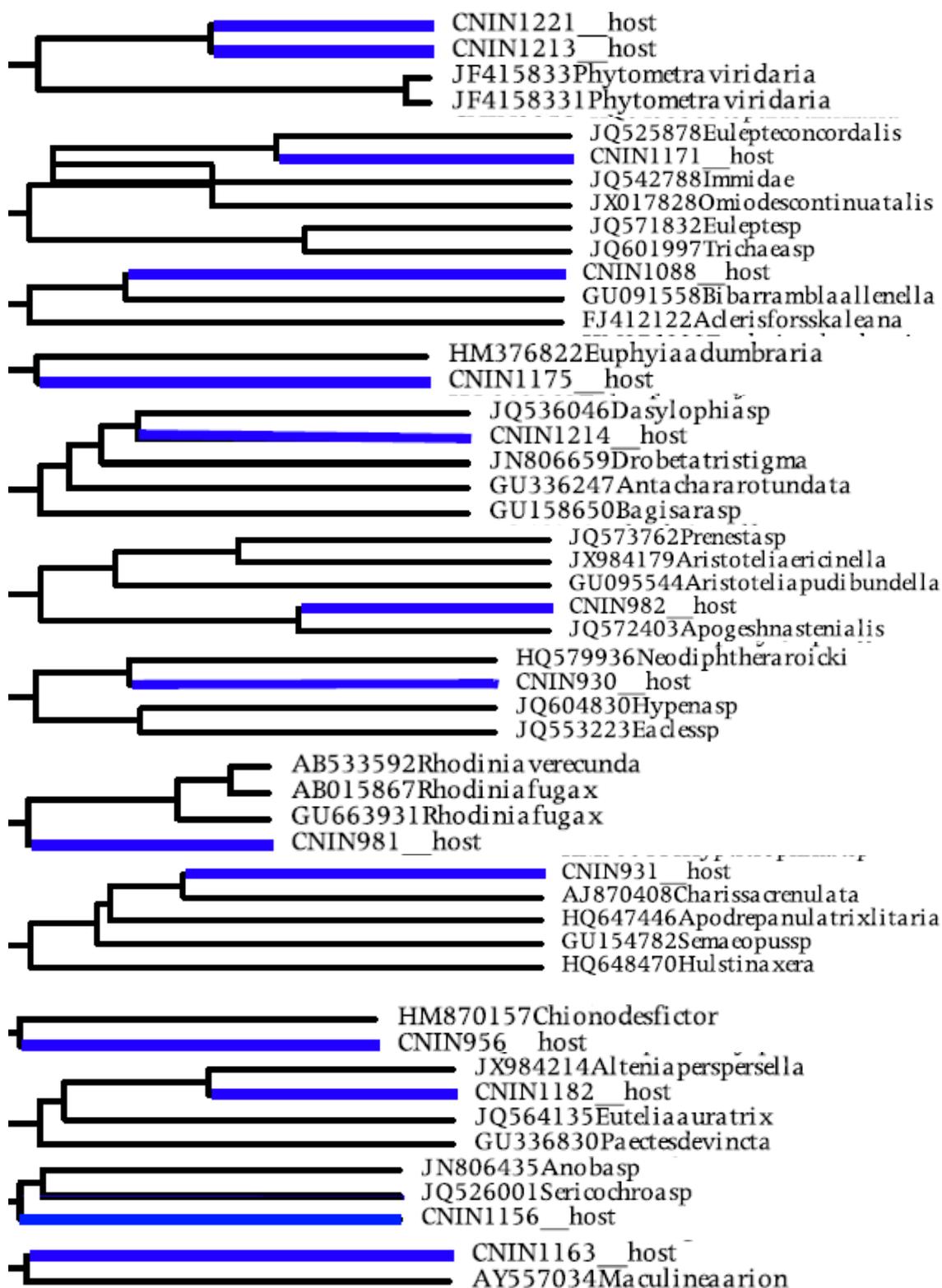


Figura 14: Clados de lepidópteros en donde se anidaron las 14 secuencias obtenidas del contenido del abdomen de las avispa rogadinas que fueron generadas con la técnica de AMAP en el árbol ultramétrico correspondiente.

Discusión

Delimitación de especies

En el presente trabajo se encontraron tres casos de incongruencia entre el número de especies de rogadinos obtenidos con evidencia morfológica y secuencias de ADN. Estos casos ocurrieron con especies de los géneros *Aleiodes* (un caso) y *Triraphis* (dos casos).

En *Aleiodes*, el caso de incongruencia observado entre información morfológica y molecular ocurrió en la especie asignada morfológicamente como *A. cameronii*, en donde la evidencia genética dividió a los tres ejemplares de esta especie con secuencias en dos unidades diferentes a pesar de que no se encontraron diferencias morfológicas consistentes. No obstante, Delfín y Wharton (2000) en su redescrición de la especie reportaron la existencia de variabilidad en el tamaño, número y localización de cavidades circulares presentes en los tergos metasomales de los machos en ejemplares procedentes tanto de Arizona como de Yucatán. Estos autores mencionaron que los machos de *A. cameronii* tienen las cavidades circulares en las tergas metasomales 5-7, mientras Shaw *et al.* (1997) reportaron ejemplares con estas cavidades en las tergas 4-6 o sólo en las tergas 5 y 6, así como ligeras diferencias en la altura del clípeo, carina media del propodeo más débil y diferencias en el color del cuerpo.

En los ejemplares de Chamela asignados a *A. cameronii* también se encontró variación en este último carácter, ya que el macho de *A. cf. cameronii* 1 presenta dos cavidades circulares situadas en la parte central, una en cada una de las tergas 5 y 6, mientras que el macho de *A. cf. cameronii* 2 presenta tres cavidades situadas centralmente, una en cada una de las tergas 4, 5 y 6. Además, se observó variación en coloración, ya que en *A. cf. cameronii* 1 el color del cuerpo y de la cabeza es amarillo pálido, mientras que en *A. cf. cameronii* 2 el color del cuerpo es anaranjado y la cabeza de color café oscuro. Por lo tanto, es necesario realizar un muestreo más amplio con el fin de confirmar si *A. cameronii* en realidad representa un complejo de especies.

En el caso del género *Triraphis*, las especies denominadas aquí como *T. sp. 2* y *T. sp. 3* no presentan diferencias morfológicas. Lo mismo sucede para las especies denominadas *T. sp. 5*, *T. sp. 6* y *T. sp. 7* que no pudieron distinguirse a partir de la revisión de los caracteres más comunes para este género, pero la evidencia molecular

separó a estos ejemplares en dos y tres especies diferentes respectivamente, dando un total de cinco especies. (Ver las distancias genéticas entre estas especies en la Cuadro 2)

Estos casos de incongruencia entre caracteres de morfología externa y la información molecular pueden explicarse mediante la posible existencia de especies crípticas. A este respecto, el código de barras del ADN puede ayudar a resolver situaciones donde las especies son morfológicamente indistinguibles aunque son genéticamente distintas. En muchos casos, estos complejos de especies morfológicamente conservadas han sido clasificados como una sola especie. Un ejemplo de ello en lepidópteros es el complejo *Astraptes fulgerator* mencionado antes, en donde se combinaron 25 años de observaciones de historia natural en el noroeste de Costa Rica con estudios de morfología y códigos de barras de especímenes de museo para mostrar que esa “especie” en realidad representa un complejo de al menos 10 especies (Hebert *et al.*, 2004). En otro ejemplo con Braconidae, Smith *et al.* (2008) emplearon información del código de barras, de morfología externa e historia natural y encontraron que la especie *Aphanteles leucostigmus* (Ashmead, 1900) en realidad representa un total de 36 especies, cada una de las cuales ataca a una especie de hospedero diferente.

Por el contrario, en algunos casos la región del gen COI no es informativa para la delimitación de especies, ya que algunas especies pueden presentar una alta variación intraespecífica que puede deberse a una reciente mezcla de especies incipientes antes separadas (introgresión), a una gran variación intraespecífica natural de la especie, o a la inmigración de una población diferente (Smith *et al.*, 2008). No obstante, en el presente estudio no se encontró evidencia de que estuviera ocurriendo alguna de esas situaciones.

Riqueza de especies de la subfamilia Rogadinae

Actualmente, la subfamilia Rogadinae cuenta con aproximadamente 680 especies descritas en 52 géneros distintos, aunque se calcula que pudieran existir alrededor de 1256 especies (Jones *et al.*, 2009). La riqueza de especies estimada para esta subfamilia es considerablemente menor a la propuesta para otras subfamilias de braconidos, incluyendo Braconinae (7,399 especies), Microgastrinae (4,025 especies), Doryctinae (2,839 especies), Alysiinae (2,378 especies) y Opiinae (3,469 especies) (Jones *et al.*, 2009).

La riqueza de especies encontrada en este estudio para la subfamilia Rogadinae en la Estación de Biología de Chamela, Jalisco fue considerablemente menor a la reportada para dos de las subfamilias arriba mencionadas, Microgastrinae y Doryctinae en estudios similares empleando el código de barras. Con respecto a la subfamilia Doryctinae, en el estudio morfológico y molecular; realizado por Zaldívar-Riverón *et al.* (2010) para la Estación de Biología de Chamela se recolectaron 468 especímenes, los cuales fueron asignados a 20 géneros y 185 especies distintas, siendo *Heterospilus* Haliday, 1836 por mucho el género con mayor número de especies (115).

En el estudio morfológico y molecular de la subfamilia Microgastrinae realizado por Fernández-Flores, *et al.* (en prensa) para la misma área, se recolectaron 569 especímenes, asignados a 13 géneros y 103 especies. En otro trabajo para Microgastrinae, Fernández-Triana (2010) reportó la riqueza de especies de este grupo para Canadá y Alaska con base en evidencia morfológica y el código de barras. El autor encontró un total de 28 géneros y 225 especies. Finalmente, Smith *et al.* (2008) encontraron 313 especies pertenecientes a seis géneros de Microgastrinae en la Reserva de Guanacaste, Costa Rica, con base en información morfológica, historia natural y código de barras.

Cabe resaltar que el conocimiento taxonómico de la subfamilia Microgastrinae, la cual probablemente representa la subfamilia más diversa de Braconidae, se ha beneficiado enormemente por el uso de la herramienta del código de barras. Actualmente, el sistema de datos del código de barras de la vida, cuenta con registros de más de 20,000 especímenes de Microgastrinae procedentes de 75 países, los cuales comprenden 50 géneros (90% del total conocido) y 1,985 especies (Smith *et al.*, 2013).

Asociaciones hospedero-parasitoide con la técnica AMAP

Saber de qué se alimentan los insectos con metamorfosis completa durante sus etapas larvales, sigue siendo desconocido, en especial para la gran mayoría de las especies de parasitoides donde su documentación sólo se basa en los resultados de observaciones de campo, cría o disecciones de los hospederos, lo cual en la mayoría de los casos resulta extremadamente difícil. Rougerie *et al.* (2010) propusieron utilizar el ADN extraído del abdomen de la avispa adulta para identificar tanto a la avispa como al hospedero que utilizó para completar su desarrollo larval.

Este método, denominado AMAP, permite la posibilidad de documentar las asociaciones de hospedero-parasitoide a un ritmo más rápido y por lo tanto incrementar la precisión de los estudios de las cadenas alimenticias. El presente estudio representa el primer trabajo en donde se aplica la técnica de AMAP con ejemplares obtenidos en el campo, demostrando que es posible que después de la ingestión por la larva parasitoide el ADN del hospedero pueda persistir a través de la metamorfosis en el contenido del abdomen de la avispa adulta.

El estudio realizado por Rougier *et al.*, (2010) fue llevado a cabo en condiciones controladas de laboratorio, en donde se criaron las larvas y se aislaron inmediatamente a las avispas emergentes para evitar cualquier tipo de contaminación, en ese trabajo se demuestra que es posible obtener ADN de contenidos abdominales de avispas adultas aunque con poco éxito (24%), esto debido a la vida media del ADN, que va desde unas horas hasta varios días, dependiendo de las tasas metabólicas de los parasitoides (Rougier *et al.*, 2010). En el presente estudio, la tasa de éxito (20.6%) de amplificación del fragmento del código de barras de lepidópteros a partir del contenido estomacal de los parasitoides adultos fue también relativamente bajo. No obstante, la amplificación de estos fragmentos representa un avance prometedor para en un futuro cercano conocer de esta forma las asociaciones hospedero-parasitoide.

Mediante este trabajo no se afirma que las especies de rogadinos que fueron encontradas en la estación de Biología de Chamela, Jalisco, realmente parasiten a las familias de lepidópteros mencionadas con anterioridad, sino que de acuerdo a los resultados del análisis realizado y a los datos disponibles en GenBank, se logra obtener una primera aproximación basada en las secuencias más cercanas a la secuencia obtenida y de esta forma reconocer a las posibles familias a las que podrían estar atacando.

Debido a que la base de datos de la cual fue tomada la información posee un gran tamaño por el hecho de que se trata un registro que es tomado a nivel mundial, se tiene una gran limitante, ya que no se cuenta con una base de datos completa de Lepidoptera particularmente para la región de Chamela. Por lo tanto, este trabajo queda restringido taxonómicamente a nivel de familia, puesto que las secuencias obtenidas del contenido abdominal de los parasitoides no necesariamente coinciden completamente con las registradas en GenBank. Es posible que en un futuro, cuando las bases de datos

de secuencias de referencia estén más completas, o en el mejor de los casos, se cuente con una adecuada base de datos tanto para el hospedero como para el parasitoide dentro de una misma área, los estudios de este tipo pudieran llegar a ser más confiables y precisos.

Al momento de comparar las secuencias del ADN obtenidas del contenido abdominal de la avispa con las registradas en la base de datos de GenBank se presentó el hecho de que algunas muestras pudieron haberse contaminado con restos de otros insectos encontrados en el material recolectado de las trampas, principalmente dípteros, por el hecho de que este trabajo empleó material recolectado varios años atrás y que se encontraba almacenado, aunado al hecho de que la técnica de extracción del ADN implica la introducción completa del individuo en proteinasa K. A continuación se listan algunas recomendaciones para que en un futuro esta técnica llevada a cabo con material entomológico recolectado directamente en campo pudiera llegar a tener una mayor eficacia y confiabilidad.

En primer lugar es recomendable poner especial atención en el método de recolecta de los especímenes a incluir en el trabajo. Lo ideal sería utilizar el método de recolecta directa (a mano) mediante trampas de luz (tela o sabanas), aunque con esto supone un esfuerzo de muestreo bajo, por lo que el número de individuos y especies podría llegar a ser pobre. Una vez colectada la avispa debe ser separada totalmente de otros insectos que pudieran ser causantes de contaminación, como son dípteros y mariposas. Los dípteros por su parte son muy frágiles y podrían quedar restos del cuerpo en las uñas tarsales de las avispas, los cuales son difíciles de quitar; mientras que una posible contaminación con tejidos (principalmente escamas) de las mariposas representan un gran problema en los resultados, ya que no se sabría si el ADN obtenido es del contenido intestinal o de las escamas de las mariposas que se desprenden con facilidad y que pueden llegar a alojarse en alguna parte del cuerpo de la avispa.

Un punto esencial para obtener la mayor cantidad de ADN posible y con una mayor calidad, es la disponibilidad de uno o varios métodos adecuados para la conservación de las muestras entomológicas en buen estado hasta el momento de la extracción del ADN (Quicke *et al.*, 1999). Otro punto importante para lograr un mayor éxito al amplificar el material genético es procesar el material recolectado a la brevedad posible, evitando así la degradación del mismo, lo cual ocurre con el paso del tiempo en

muestras almacenadas y por factores tan inevitables como la humedad, la temperatura, el pH, etc. (Mandrioli *et al.*, 2006).

Si el material a procesar es como el de este estudio, donde no se tiene otra alternativa que emplear diferentes técnicas de recolección, es recomendable enjuagar cuidadosamente con agua destilada a cada avispa, poniendo énfasis en las uñas tarsales, mediante la utilización de un microscopio estereoscópico y asegurando que no se encuentre ningún agente ajeno al cuerpo de la avispa antes de la extracción del ADN.

De las posibles familias que se sugiere en este trabajo pudieran ser atacadas por las especies de *Aleiodes*, las coincidencias con la literatura incluyen a Arctiidae, Geometridae, Noctuidae y Tortricidae (Achterberg, 1995). Para los géneros restantes no hubo coincidencia con la literatura existente. Esto puede deberse en parte a que el conocimiento de la biología en la mayor parte de las especies de este grupo se encuentra pobremente documentado. Por ejemplo, las especies de *Choreborogas* y *Stiropius* son de tamaño muy pequeño (aprox. 2mm), por lo que son difíciles de recolectar.

En la literatura (Whitfield, 1988, 1990; Achterberg, 1995; Campos-Moreno, 2001) se reporta solamente que las especies de estos dos géneros son endoparasitoides solitarios de Lyonettiidae, aunque para *Stiropius* está también reportada la familia Gracilariidae. La condición solitaria además podría dificultar la observación de las especies de estos dos géneros, ya que solo una larva se desarrolla completamente y emerge de la larva hospedero, contrario a los parasitoides gregarios donde más de uno y hasta cientos de descendientes pueden completar el desarrollo en el hospedero (Hanson y Gauld, 2006).

En concordancia con Smith *et al.* (2013), esta técnica no puede sustituir a la forma tradicional de crianza de larvas hospederos para saber qué especies están siendo atacadas, pero si puede proporcionar una manera más fácil y rápida para obtener información cuando los hospederos son desconocidos o cuando son difíciles de encontrar. Esta técnica novedosa también podría aplicarse de forma inversa, es decir una vez obtenida la oruga parasitada, se podría extraer el tanto el ADN del parasitoide como de la planta de la que se alimenta la oruga, logrando así identificar a todos los componentes de la cadena trófica. De cualquier forma, esta técnica representa una herramienta muy prometedora para futuros estudios de redes tróficas, así como en el

conocimiento de las relaciones hospedero-parasitoide, lo cual podría beneficiar de forma directa en la rápida identificación de controles biológico potenciales para su uso en la agricultura.

Por último, el protocolo empleado para este estudio es un método no destructivo, por lo que los ejemplares pueden ser posteriormente depositados en colecciones científicas, permitiendo por lo tanto el estudio subsecuente de los caracteres de morfológicos tanto internos como externos.

Importancia de las herramientas moleculares en el estudio de la biodiversidad

Las herramientas moleculares, en especial el uso de secuencias de ADN, se ha comprobado que ayudan a agilizar y facilitar diversos tipos de estudios sobre biodiversidad (Monaghan, 2009; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2013). Por ejemplo, el código de barras de ADN es una herramienta que acelera enormemente las tareas de identificación de especies y por lo tanto el inventario y los estudios sobre conservación de la biodiversidad, los cuales actualmente han cobrado una mayor importancia debido a la pérdida acelerada de la diversidad orgánica (Wiens, 2007).

La identificación de especies en varios casos se dificulta considerablemente debido a la plasticidad de los caracteres fenotípicos, por lo que la morfología no siempre es informativa para la identificación correcta de los organismos, sobre todo en especies crípticas o pseudocrípticas (Sáez y Lozano, 2005). En estos casos, la opción más adecuada es integrar la evidencia morfológica, molecular, conductual y de distribución para establecer el límite de las especies (Roe y Sperling, 2007; Lamas, 2008; Padial *et al.*, 2010; Padial y De la Riva, 2010).

En el caso de este estudio, se complementan la información morfológica y molecular para apoyar las hipótesis de especies propuestas siguiendo un criterio denominado “taxonomía integrativa”. Este criterio se basa en la propuesta de emplear diferentes líneas de investigación para el descubrimiento y delimitación de especies capaz de unificar el conocimiento, empleando para ello datos y métodos de la biología de poblaciones, filogeografía y filogenética, así como cualquier otra disciplina que analice el origen y evolución de las especies (Padial *et al.*, 2010; Padial y De la Riva, 2010).

Conclusiones

- Se recolectaron 92 especímenes de la subfamilia Rogadinae pertenecientes a seis géneros: *Aleiodes*, *Choreborogas*, *Clinocentrus*, *Stiropius*, *Triraphis* y *Yelicones*.
- La congruencia entre la información morfológica y molecular (68 secuencias de ADN) permitió delimitar 20 especies. Además, cuatro especies fueron identificadas con evidencia morfológica y hubo tres casos de incongruencia entre la información molecular y morfológica. Por lo tanto, un total de 27 especies se reconocen de manera preliminar para la región de estudio, de las cuales 20 son nuevas para la ciencia.
- De 31 secuencias obtenidas a partir del contenido intestinal de las avispas se obtuvo información de secuencias de lepidópteros para 14 secuencias (20.6%). De éstas, se obtuvo información para cinco de los seis géneros recolectados en este estudio. *Aleiodes* tuvo el mayor número de secuencias coincidentes con la base del GenBank (nueve secuencias), seguido de *Stiropius* con dos secuencias y de *Choreborogas*, *Yelicones* y *Triraphis* con una secuencia.
- Las secuencias obtenidas a partir del contenido intestinal de las avispas sugieren que las especies de rogadinos recolectadas en la Estación de Chamela, Jalisco, podrían estar parasitando especies de lepidópteros de las familias Arctiidae, Noctuidae, Gelechiidae, Crambidae, Tortricidae, Elachistidae, Geometridae, Saturniidae, Erebidae, Pieridae y Lycaenidae.
- Este tipo de estudio representa el primer intento en campo para obtener ADN empleando la técnica AMAP.

Referencias

- Achterberg C. van. 1991. *Revision of the genera of Afrotropical and W. Paleartical Rogadinae Foerster (Hymenoptera: Braconidae)*. Zoologische Verhandelingen. 273:1-102.
- Achterberg C. van. 1993. *Illustrated key to the subfamilies of the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea)*. Zoologische Verhandelingen. 283:1-189.
- Achterberg C. van. 1995. *Generic revision of the subfamily Betylobraconinae (Hymenoptera: Braconidae) and other groups with modified fore tarsus*. Zoologische Verhandelingen. 298:1-242 .
- Altschul S. F., T. L. Madden, A. A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller y D. J. Lipman. 1997. *Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs*. Nucleic Acids Research. 25: 3389-3402.
- Andersen N., L. Cheng, J. Damgaard y F. Sperling. 2000. *Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography of oceanic insects (Hemiptera: Gerridae: Halobates spp.)*. Marine Biology, 136:421-430.
- Apablaza, H. J. 2000. *Introducción a la entomología general y agrícola*. 3ª ed. Edit. Ediciones Universidad Católica de Chile. pp. 2-5.
- Areekul B. y D. L. J. Quicke. 2006. *Systematics of the parasitic wasp genus Yelicones Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) and revision of the genus from the New World*. Systematics and Biodiversity, 4:255-376.
- Armstrong K. F., C. M. Cameron y E. R. Frampton. 1997. *Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: a rapid molecular diagnostic technique for quarantine application*. Bulletin of Entomological Research. 87:111-118.
- Armstrong K. F., P. Mchugh, W. Chinn, E. R. Frampton y P. J. Walsh. 2003. *Tussock moth species arriving on imported used vehicles determined by DNA analysis*. New Zealand Plant Protection. 56:16-20.
- Barber P. y S. L. Boyce. 2006. *Estimating diversity of Indo-Pacific coral reef stomatopods through DNA barcoding of stomatopod larvae*. Proceedings of the Royal Society of London. Biological Sciences. 273:2053-2061.
- Bullock S. H. 1986. *Rasgos del ambiente físico y biológico de Chamela, Jalisco, México*. Folia Entomológica Mexicana 77:5-17.
- Campos-Moreno D. F. 2001. *Lista de Géneros de Avispas Parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de la región Neotropical*. Biota Colombiana 2(3):93-232.
- Ceballos, G. y Á. Miranda. 1986. *Los mamíferos de Chamela, Jalisco. Manual de campo*. UNAM, Instituto de Biología. México. Pp. 19-53.
- Chen X. y J. He. 1997. *Revision of the subfamily Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) from China*. Zoologische Verhandelingen. 308:1-187.

- Chapman R. F., S. J. Simpson y A. E. Douglas. 2012. *The Insects: Structure and Function*. Cambridge University Press. 954 p.
- Coronado-Blanco J. M. y A. Zaldívar-Riverón. 2013. Biodiversidad de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- Daly H. V., J. T. Doyen y A. H. Purcell. 1998. *Introduction to Insect Biology and Diversity*. Oxford University Press 2^a edic. 478-503 p.
- Delfín G. H. y R. A. Wharton. 2000. *Historical review of the genera **Aleiodes** and **Rogas** in Mexico, with a redescription of **Aleiodes cameronii** (Hymenoptera: Braconidae)*. *Pan-Pacific Entomologist*. 76(1):58-70.
- Drummond A. J., M. A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. 2012. *Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7*. *Molecular Biology and Evolution*. 29:1969-1973.
- Dugdale, J. S., D. Gleeson, L. H. Clunie y P. Holder. 2005. *A diagnostic guide to Tortricidae encountered in field surveys and quarantine inspections in New Zealand: Morphological and Molecular Characters*. Ministry of Agriculture y Forestry. 163 p.
- Durán E., P. Balvanera, E. Lott, G. Segura, A. Pérez-Jiménez, A. Islas y M. Franco. 2002. *Estructura, composición y dinámica de la población*. Pp. 443-472. En: Noguera F., J. Vega y A. García (Eds). *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México.
- Fernández-Triana J. L. 2010. *Eight new species and an annotated checklist of Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae) from Canada and Alaska*. *Zookeys*, 63:1-53.
- Fernández-Flores S., J. L. Fernández-Triana, J. J. Martínez y A. Zaldívar-Riverón. En prensa. *DNA barcoding species inventory of Microgastrinae wasps (Hymenoptera, Braconidae) from a Mexican tropical dry forest*. *Molecular Ecology Resources*.
- Gauld Ian y B. Bolton. 1988. *The Hymenoptera*. British Museum (Natural History) Oxford University Press. 332 p.
- García, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 246 p.
- Gillott C. 2005. *Entomology*. 3rd edic. Springer. 831 p.
- Godfray H. C. J. 1994. *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Editorial Princeton University Press. 473 p.
- Gullan P. J. y P. S Cranston. 2010. *The insects. An outline of entomology*. 4^{ta}. Edic. Editorial Wiley-Blackwell. 384p.

- Hajibabaei M., D. H. Janzen J. M. Burns, W. Hallwachs y P. D. N. Hebert. 2006a. *DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103:968-971.
- Hajibabaei M., M. Smith, D. Janzen, J. Rodríguez, J. Whitfield y P. Hebert. 2006b. *A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded*. *Molecular Ecology Notes*, 6:959-964.
- Hajibabaei M., G. A.C. Singer, P. D.N. Hebert y D. A. Hickey. 2007. *DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics*. *Trends in Genetics*. 23(4): 167-172.
- Hanson P. E. y I. D. Gauld. 2006. *Hymenoptera de la región neotropical*. American Entomological Institute. 994 p.
- Hebert P.D.N., A. Cywinska, S.L. Ball y J.R. de Waard. 2003a. *Biological identification through DNA barcodes*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 270:S96-S99.
- Hebert, P. D. N., S. Ratnasingham y J. R de Waard. 2003b. *Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species*. Proc. R. Soc. B 270 (Suppl. 1): S96-S99.
- Hebert P. D. N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen y W. Hallwachs. 2004. *Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator**. Proceedings of the National Academy of Sciences. 101(41): 14812-14817.
- Hutto L. R., P.Hendricks y S. Pletschet. 1985. *Un censo invernal de las aves de la estación de Biología Chamela, Jalisco, México*. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 56, Ser. Zool. (3): 945-954.
- Janzen, D. H., M. Hajibabaei, J. M. Burns, W. Hallwachs, E. Remigio y P. D. N. Hebert. 2005. *Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding*. Philosophical Transactions of the Royal Society. B. Biological Sciences. 360: 1835-1845.
- Jin Q., H. Han, X. Hu, X. Li y C. Zhu. 2013. *Quantifying species diversity with a DNA Barcoding-Based method: tibetan moth species (Noctuidae) on the Qinghai-Tibetan Plateau*. PLoS ONE. 8(5): e64428.
- Jones O. R., A. Purvis, E. Baumgart y D.L.J. Quicke. 2009. *Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. *Insects Conservation and Diversity*. 2: 204-212.
- Jurado-Rivera J. A., A. P. Vogler, C. A. M. Reid, E. y J Gómez-Zurita. 2009. *DNA barcoding insect-host plant associations*. Proceedings of the Royal Society B. 276:639-648.

- Kimura M. 1980. *A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences*. Journal of Molecular Evolution 16:111-120.
- Klowden M. J. 2007. *Physiological Systems in Insects*. Editorial Academic Press. 2^a edic. 688 p.
- Kula R. R., J. T. Lill, S. M. Murphy y T. Stoepler. 2009. *First Host Records for the Nearctic Species **Triraphis discoideus** (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae)*. Entomological News. 120 (4):380-386.
- Lanteri A. 2007. *Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología*. Revista de la Sociedad Entomologica Argentina. 66(3-4): 15-25.
- Lanave C., G. Preparata, C. Saccone y G. Serio .1984. *A new method for calculating evolutionary substitution rates*. Journal of Molecular Evolution. 20:86-93.
- Lamas, G. 2008. *La sistemática sobre mariposas (Lepidoptera:Hesperoidea y Papilionoidea) en el mundo: estado actual y perspectivas futuras*. En Contribuciones taxonómicas en órdenes de insectos hiperdiversos. Llorente-Bousquets, J. y A. Lanteri (eds.) Las Prensas de Ciencias, UNAM, México D.F, pp. 57-70.
- Losey J. E. y M. Vaughan. 2006. *The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects*. BioScience. 56(4):311-323
- Mandrioli M., F. Borsatti y L. Mola. 2006. *Factors affecting DNA preservation from museum-collected lepidopteran specimens*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 120: 239-244.
- Martín-Piera F. 1997. *Apuntes sobre biodiversidad y conservación de insectos: dilemas, ficciones y ¿soluciones?* Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa. 20: 25-55.
- Marshall S. A. 1994. *Terrestrial arthropod biodiversity: Planning a study and recommended sampling techniques*. Entomological Society of Canada -Bulletin. 26(1):1-33.
- Marsh P. M. y S. R. Shaw. 1998. *Revision of North American **Aleiodes** Wesmael (Part 3): the *seriatus* (Herrich-Schaeffer) Species-group (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 100(3): 395-408.
- Marsh P. M. y S. R. Shaw. 1999. *Revision of North American **Aleiodes** Wesmael (Part 5): The *melanopterus* (Erichson) Species-group (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. The Journal of Hymenoptera Research. 8(1):98-108.
- Marsh P. M. y S. R. Shaw. 2001a. *Revision of North American **Aleiodes** Wesmael (Part 6): The *gasterator* (Jurine) and *unipunctator* (Thunberg) Species-groups (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 103(2): 291-307.

- Marsh P. M. y S. R. Shaw. 2003. *Revision of North American Aleiodes Wesmael (Part 7): The compressor Herrich-Schaeffer, Ufei (Walley), Gressitti (Muesebeck) and procerus wesmael species-groups (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 105(3): 698-707.
- Márquez L. J. 2005. *Técnicas de colecta y preservación de insectos*. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa. 37:385-408.
- McGavin G. C. 2002. *Entomología Esencial*. Edit. Ariel. S. A. Barcelona. 352 p.
- Mittermeier, R. y C. Goettsch. 1992. *La importancia de la diversidad biológica de México*. pp. 57-62 en: México ante los retos de la biodiversidad. CONABIO, México.
- Monaghan T. M., R. Wild, M. Elliot, T. Fujisawa, M. Balke, D. J. G. Inwaerd, D.C. Less, R. Ranaivosolo, P. Eggleton, T. G. Barraclough y A. P. Vogler. 2009. *Accelerated Species Inventory on Madagascar Using Coalescent-Based Models of Species Delineation*. Systematic Biology. 58(3): 298-311.
- Moritz C. y C. Cicero. 2004. *DNA barcoding: promise and pitfalls*. PloS. Biology. 2:1529-1531.
- Moron M. A. y R. A. Terrón. 1988. *Entomología práctica. Una guía para el estudio de los insectos con importancia agropecuaria, medica, forestal y ecológica de México*. Instituto de Ecología A. C. 504pp.
- Noguera F. A., J. H. Vega, A. N. García-Aldrete y M. Quesada-Avenidaño (Eds.). 2002. *Historia natural de Chamela*. UNAM, México. Pp. 3-17.
- Ochoa-Ochoa, L. M. y O. Flores-Villela. 2006. *Áreas de diversidad y endemismo de la herpetofauna mexicana*. UNAM-CONABIO, México. 211pp.
- Ornosa C. y F. J. Ortiz-Sánchez. 2004. *Hymenoptera, Apoidea I*. En: Fauna Ibérica, vol. 23. Ramos, M.A. et al. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. Madrid. 553 p.
- Padial J. e I. De la Riva. 2010. *A response to recent proposals for integrative taxonomy*. Biological Journal of the Linnean Society. 101:747-756.
- Padial J. M., A. Miralles e I. De la Riva y M. Vences. 2010. *The integrative future of taxonomy*. Frontiers in Zoology. 7(1):16.
- Papadopoulou A., I. Anastasiou y A. P. Vogler. 2010. *Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-aegean trench calibration*. Molecular Biology and Evolution. 27:1659-1672.
- Pons J., Barraclough T., Gomez-Zurita J., Cardoso A., Duran D., Hazell S., Kamoun S., Sumlin W. y Vogler A. 2006. *Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects*. Systematic Biology. 55:595-610.

- Prudic K., A. Warren y J. Llorente-Bousquets. 2008. *Molecular and morphological evidence reveals three species within the California sister butterfly, **Adelpha bredowii** (Lepidoptera: Nymphallidae: Limenitidinae)*. Zootaxa, 1819:1-24
- Quicke D.L.J., M.J.K. Chishti y H.H. Basibuyuk. 1996. *A revision of the **Yelicones** species Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae from Central America, with descriptions of sixteen new species*. Zoologische Mededelingen.70:17-61.
- Quicke D. L. J. 1997. *Parasitic wasps*. Chapman y Hall. 470 p.
- Quicke D. L. J., R. Belshaw y C. Lopez-Vaamonde. 1999. *Preservation of hymenopteran specimens for subsequent molecular and morphological study*. Zoologica Scripta. 28:261-267.
- Rambaut A. y A. J. Drummond. 2007. Tracer v1.4. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Rodríguez F. O. 2007. *Cría rentable de abejas reinas y producción de jalea real*. Ediciones Continente. 123 p.
- Rougerie R., M. A. Smith, J. Fernández-Triana, C. Lopez-Vaamonde, S. Ratnasingham y P. D.N. Hebert. 2010. *Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host*. Molecular Ecology. 20:179-186.
- Roe A. y Sperling F. 2007. *Population structure and species boundary delimitation of cryptic **Dioryctria** moths: An integrative approach*. Molecular Ecology. 16(17) 3617-33.
- Sáez A. G. y E. Lozano. 2005. *Cryptic species: as we discover more examples of species that are morphologically indistinguishable, we need to ask why and how they exist*. Nature. 433(16):3617-3633.
- Shaw M. R. y T. Huddleston. 1991. *Classification and Biology of Braconid Wasp (Hymenoptera: Braconidae)*. Royal Entomology Society of London. Handbooks for the Identification of British Insects. 7(11): 54-58.
- Shaw S. R., P. M. Marsh y J. C. Fortier. 1997. *Revision of North American **Aleiodes Wesmael** (Part 1): the pulchripes Wesmael species-group in the New World (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. The Journal of Hymenoptera Research. 6: 10-35.
- Shaw S. R., P. M. Marsh y J. C. Fortier. 1998a. *Revision of North American **Aleiodes Wesmael** (Part 2): the apicalis (Brullé) Species-group in the New World (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. The Journal of Hymenoptera Research. 7(1): 62-73.
- Shaw S. R., P. M. Marsh y J. C. Fortier. 1998b. *Revision of North American **Aleiodes Wesmael** (Part 4): the albitibia Herrich-Schaeffer and praetor Reinhard Species-groups (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae) in the New World*. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 100(3):553-565.

- Shaw S. R. 1998. Subfamily Rogadinae s. s. p. 411-420. En Wharton, R.A., Marsh, P.M, Sharkey, M.R. (eds). 1998. *Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo mundo*. The International Society of Hymenopterists, Washington, DC.
- Shaw S. R., P. M. Marsh y J. C. Fortier. 2006. *Revision of Nearctic Aleiodes Wesmael (Part 8): the coxalis (Spinola) Species-Group (Hymenoptera: Braconidae, Rogadinae)*. Zootaxa. 1314: 1-30.
- Smith M. A. B. L Fisher y P. D. N Hebert. 2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 360 (1462): 1825-1834.
- Smith M. A., N. Woodley, D. Janzen, W. Hallwachs y P. Hebert. 2006. *DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae)*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103(10): 3657-3662.
- Smith M. A., J. J. Rodriguez, J. B. Whitfield, A. R. Deans, D. H. Janzen, W. Hallwachs y P. D. N. Hebert. 2008. *Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology and collections*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 105 (34):12359-12364.
- Smith M. A., J. L. Fernández-Triana, E. Eveleigh, J. Gómez, C. Guclu, W. Hallwachs, P. D. Hebert, J Hrcek, J. T. Huber, D. Janzen, P. G. Mason, S. Miller, D. L. Quicke, J. J. Rodriguez, R. Rougerie, M. R. Shaw, G. Várkonyi, D. F. Ward, J. B. Whitfield, A. Zaldívar-Riverón. 2013. *DNA barcoding and the taxonomy of Microgastrinae wasps (Hymenoptera, Braconidae): impacts after 8 years and nearly 20,000 sequences*. Molecular Ecology Resources. 13:168-176.
- Swofford, D. L. 2002. *PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Thompson I. D., K. Okabe, J. M. Tylianakis, P. Kumar, E. G. Brockerhoff, N. A. Schellhorn, J. A. Parrotta y R. Nasi. 2011. *Forest Biodiversity and the Delivery of Ecosystem Goods and Services: Translating Science into Policy*. BioScience. 61(12):972-981.
- Valerio, A. A. 2006. *Some taxonomic notes on named Rogas Nees species (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) for the New World*. Methods in Ecology and Systematics 1: 37-43.
- Wajnberg É., C. Bernstein, y J. van Alphen. 2008. *Behavioural Ecology of Insect Parasitoids: From theoretical approaches to field applications*. Blackwell Publishing. 464 p.
- Wharton R., P. Marsh y M. Sharkey. 1998. *Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del nuevo mundo*. The International Society of Hymenopterists, Washington, D.C. 447 p.

- Wharton R., L. Vilhelmsen y G. A. P. Gibson. 2004. *Characterizing basal apocritans (Hymenoptera: Apocrita)*. Proceedings of the Russian Entomological Society. 75: 17-23.
- Whitfield J. B. 1988. *Revision of the Nearctic species of the genus **Stiropius** Cameron (=Bucculatriplex Auct.) with the description of a new related genus (Hymenoptera: Braconidae)*. Systematic Entomology. 13:373-385.
- Whitfield J. B. 1990. *Phylogenetic review of the **Stiropius** group of genera (Hymenoptera, Braconidae, Rogadinae) with description of a new Neotropical genus*. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 92:36-43.
- Wiens J. 2007. *Species Delimitation: New Approaches for Discovering Diversity*. Systematic Biology. 56(6): 875-878.
- Yu D. S. K., C. van Achterberg y K. Horstmann. 2012. *Taxapad 2012, Ichneumonoidea 2011*. Database on flash-drive. www.taxapad.com, Ottawa, Ontario, Canadá.
- Zaldivar-Riverón A., M. Mori y D. L. J. Quicke. 2006. *Systematics of the cyclostome subfamilies of braconid parasitic wasps (Hymenoptera: Ichneumonoidea): a simultaneous molecular and morphological Bayesian approach*. Molecular Phylogenetics and Evolution. 38: 130-145.
- Zaldivar-Riverón A., M. R. Shaw, A. G. Sáez, M. Mori, S. A. Belokobylskij, S. R. Shaw y D. L. J. Quicke. 2008. *Evolution of the parasitic wasp subfamily Rogadinae (Braconidae): phylogeny and evolution of lepidopteran host ranges and mummy characteristics*. BMC Evolutionary Biology. 8: 329.
- Zaldivar- Riverón A., J. J. Martínez, F. S. Ceccarelli, V. S. de Jesus-Bonilla, A. C. Rodríguez-Pérez, A. Reséndiz-Flores, y M. A. Smith. 2010. *DNA barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve*. Informa Life Sciences. 21:18-23.