



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**DIVERSIDAD DE AVISPAS PARASITOIDES DE LA
SUBFAMILIA DORYCTINAE (HYMENOPTERA:
ICHNEUMONOIDEA: BRACONIDAE) DE LA RESERVA
DE LA BIOSFERA CHAMELA-CUIXMALA EMPLEANDO
EL CODIGO DE BARRAS DE ADN.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO
PRESENTA:
ANA CECILIA RODRÍGUEZ PÉREZ

**DIRECTOR DE TESIS: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR
RIVERÓN**

2012



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.

A mi madre

Por el amor, el esfuerzo y la dedicación que me ha brindado toda mi vida.

**DIVERSIDAD DE AVISPAS PARASITOIDES DE LA SUBFAMILIA
DORYCTINAE (HYMENOPTERA: ICHNEUMONOIDEA:
BRACONIDAE) DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA DE
CHAMELA-CUIXMALA EMPLEANDO EL CÓDIGO DE BARRAS
DE ADN**

Alumna: Ana Cecilia Rodríguez Pérez

Director de tesis: Alejandro Zaldívar Riverón

Índice

Resumen	5
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El orden Hymenoptera	1
1.2 Familia Braconidae.....	3
1.3 Subfamilia Doryctinae	7
1.4 Diversidad de Doryctinos en el mundo y trabajos en México relacionados con este grupo de estudio.	10
1.5 El código de barras de ADN de la vida.....	13
1.6 Códigos de barras en Hymenoptera.....	14
1.7 Justificación del estudio.....	15
1.8 Objetivo general	15
1.9 Objetivos Particulares	15
2. MÉTODO.....	16
2.1 Área de Estudio.....	16
2.2 Tipo de vegetación de la zona de estudio	17
2.3 Tipo de clima	18
2.4 Trabajo de campo	18
2.5 Técnicas de recolecta.....	20
2.6 Identificación del material entomológico.....	23
2.7 Obtención de secuencias de ADN.....	23
2.8 Análisis para delimitar especies	24
3. RESULTADOS	25
3.1 Diversidad de géneros de la subfamilia Doryctinae.....	25
3.2 Eficiencia de las técnicas de recolecta.....	27
3.3 Abundancia de especímenes por género.....	28
3.4 Diversidad de especies identificadas con códigos de barras.	31
3.5 Variación en el número de especies obtenidas en relación con los meses de colecta.	33
3.6 Eficiencia de las técnicas de muestreo para recolectar especies de doryctinos.....	33
3.7 Curva de acumulación de especies determinadas con el código de barras de ADN.....	34
4. DISCUSIÓN	35
4.1 Diversidad de la subfamilia Doryctinae.....	35
4.2 Taxones recolectados con las técnicas de muestreo	36
4.3 Importancia del uso del código en Doryctinae.....	36
5. CONCLUSIONES.....	39
6. REFERENCIAS.....	41
7. APENDICE 1	48

Rodríguez-Pérez, A. C. 2012. Diversidad de avispas parasitoides de la subfamilia Doryctinae (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae) de la reserva de la biósfera de Chamela-Cuixmala empleando el código de barras de ADN de la vida. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 54pp.

Resumen

Los himenópteros parasitoides tienen un papel fundamental en los ecosistemas ya que representan un control natural de otros insectos. La familia Braconidae es la segunda más diversa dentro de Hymenoptera con más de 17,000 especies descritas a la fecha a nivel mundial. Una de las subfamilias de Braconidae más diversas es Doryctinae, con más de 1,000 especies descritas y más de 180 géneros reconocidos. No obstante esto, el trabajo taxonómico para esta subfamilia es aún muy escaso. El código de barras de la vida (aprox. 650 pb del gen mitocondrial citocromo oxidasa I) es una herramienta molecular que emplea secuencias del ADN para la identificación de especies, debido a que su diferencia nucleotídica es generalmente mucho menor entre individuos de una especie que entre especies estrechamente relacionadas. Debido a la extraordinaria diversidad de especies que podemos encontrar dentro de la subfamilia Doryctinae y a su morfología conservada, el código de barras representa una alternativa para identificar de manera rápida el número de especies presentes en este grupo. El objetivo de este estudio fue el conocer la diversidad de géneros de Doryctinae presentes en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco, así como investigar el número de especies de esta subfamilia en la región de estudio, utilizando para ello secuencias del código de barras. Se realizaron cinco salidas al campo durante un año y se utilizaron cuatro tipos de muestreo: redes entomológicas, platos amarillos, trampas de luz y trampas Malaise. Se obtuvo un total de 777 ejemplares procedentes de 17 localidades distintas, de las cuales se identificaron 26 géneros. De estos ejemplares se obtuvieron 524 secuencias y se identificaron 289 especies empleando el método "General mixed Yule-Coalescent Model", el cual requiere de un árbol ultramétrico con longitudes de ramas escaladas en tiempo para poder distinguir entre los eventos de coalescencia y especiación en dicho árbol. El análisis de los datos reveló que el género *Heterospilus* tuvo el mayor número de ejemplares secuenciados y de especies, con 177 y 345, respectivamente. La red entomológica fue la trampa más eficiente para recolectar ejemplares de doryctinos, aunque la trampa de luz tuvo una mayor diversidad de géneros recolectados. Aunque febrero fue el mes donde se capturaron más ejemplares, en junio se colectaron más géneros, y el número de especies recolectadas en estos meses fue similar. Los géneros *Coiba*, *Panama*, *Hansonorum*, *Masonius*, *Neoheterospilus*, *Psenobolus*, *Ptesimogaster*, *Vanderentiellus*, *Iare*, *Heterospathius* y *Caenophanes* representan registros nuevos para México. El género *Caenophanes* representa el primer registro de este taxón para el Continente Americano. La extraordinaria diversidad de especies de la subfamilia Doryctinae en la Reserva de Chamela Cuixmala sugerida por el código de barras representa una ayuda para la rápida descripción de nuevos taxones en el grupo, aunque esta evidencia necesita ser confirmada por otras fuentes de información, incluyendo morfología, marcadores nucleares, y datos de historia natural de los organismos.

Palabras clave: Código de barras de ADN, Hymenoptera, Braconidae y Doryctinae.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El orden Hymenoptera

Los insectos constituyen una parte muy importante de los ecosistemas del planeta debido a las funciones que realizan dentro de éste, entre las cuales destacan el reciclaje de nutrientes, la propagación y mantenimiento de la diversidad de plantas, además del sostén de la estructura de la comunidad animal (Gullan y Cranston, 2005). La enorme abundancia y diversidad de los insectos los coloca por encima de otras clases de artrópodos e incluso phyla de animales. Actualmente se conocen alrededor de un millón de especies de insectos, pero se cree que su diversidad real es de por lo menos tres millones (Dolphin y Quicke, 2001). Entre los órdenes con mayor número de especies se encuentra Hymenoptera, con más de 115, 000 especies descritas (Hanson y Gauld, 2006), pero este número solo representa una parte de su diversidad real ya que aún hay muchas especies que no han sido descritas, por lo que este orden podría superar a Coleoptera y Lepidoptera en riqueza de especies (Grisell, 1999).

Es de gran interés estudiar a los himenópteros puesto que tienen un papel fundamental en los ecosistemas y en la economía del ser humano. Tanto los himenópteros depredadores como los parásitos son parte esencial de las cadenas tróficas, manteniendo la densidad poblacional de otras especies de insectos y a su vez sirviendo de presas y huéspedes a otros animales (Schoenly, 1990). El ser humano obtiene beneficios de los himenópteros tales como la domesticación de las abejas para obtener miel que se utiliza como alimento y para el tratamiento de heridas. Otro ejemplo son las avispas parasitoides, las cuales ayudan a controlar múltiples plagas de insectos en cultivos agrícolas (Hanson y Gauld, 2006). Además, los himenópteros parasitoides pueden ser empleados como bioindicadores de impacto ambiental, ya que pueden representar la diversidad de hospederos artrópodos que ellos atacan (LaSalle y Gauld, 1993).

El orden Hymenoptera incluye a las moscas sierra, avispas, abejas y hormigas. Los himenópteros son insectos holometábolos, por lo que su ciclo de

vida se compone de huevo, larva, pupa y adulto. Generalmente presentan alas membranosas, siendo las frontales más grandes que las traseras y con pocas venas relativamente. Sus antenas son usualmente largas con diez o más segmentos. Las hembras tienen un ovopositor bien desarrollado, algunas veces más grande que el cuerpo o modificado en aguijón (Borror, 1970).

Los himenópteros habitan en un gran número de ambientes terrestres, y algunas especies hasta ocupan ambientes acuáticos, como es el caso de algunas avispas parasitoides de odonatos, hemípteros y dípteros acuáticos (Hanson y Gauld, 2006). Las formas de vida de los himenópteros van desde eusociales hasta solitarios, fitófagos y parasitoides (Wharton, 1998). También tienen formas de alimentación muy variada, incluyendo polen, néctar floral, así como tejidos de larvas de coleópteros, lepidópteros y dípteros, entre otros, en sus formas inmaduras (Borror, 1970).

Los himenópteros se dividen tradicionalmente en dos subórdenes, Symphyta y Apocrita. Los miembros de Symphyta tienen alas con venación comparativamente completa, son fitófagos y no presentan la constricción abdominal característica del resto de los himenópteros. Los miembros de Apocrita por otra parte presentan una constricción abdominal, la cual está formada por la unión del primer segmento abdominal con el tórax y una fuerte constricción entre los dos primeros segmentos abdominales (Sharkey, 2007). El suborden Apócrita es un grupo monofilético que contiene dos divisiones principales: 1) Aculeata, que incluye a las abejas, avispas depredadoras, aculeatos parasitoides y hormigas; y 2) Parasítica, que incluye un gran número de superfamilias de avispas parasitoides, entre ellas Ichneumonoidea, la cual contiene a las dos familias más diversas del orden y uno de los grupos más diversos del planeta, Ichneumonidae y Braconidae (Wharton, 1998), ambas con un estimado de 100 000 especies (Sharkey y Wharton 1998).

Aproximadamente el 80% de los himenópteros son parasitoides (LaSalle y Gauld 1993), y su gran diversidad tiene un efecto significativo en el control de especies de plagas, contribuyendo al balance de los ecosistemas terrestres (LaSalle y Gauld, 1993; Hawkins y Hochberg 1994). Además, los himenópteros parasitoides pueden ser utilizados en programas de control biológico debido al gran impacto que pueden tener en las poblaciones de sus hospederos (LaSalle y Gauld 1993).

Los insectos parasitoides en sus estadios inmaduros requieren de otro invertebrado (generalmente insecto) para completar su desarrollo al cual matan en el proceso. (Sharkey, 1998). Existen dos tipos de parasitoides, los idiobiontes, que detienen el desarrollo de su huésped después de atacarlo, y los koinobiontes, que permiten el desarrollo del huésped por un tiempo después de que lo parasitan (Wharton, 1998).

1.2 Familia Braconidae

Dentro de la superfamilia Ichneumonoidea se encuentra la familia Braconidae, siendo ésta la más grande de las familias de avispas parasíticas, con más de 15 000 especies descritas en el mundo (Gauld y Bolton, 1988); sin embargo esto es solo una fracción de las aproximadamente 40 000 especies que se tienen estimadas para el grupo (Dolphin y Quicke, 2001). Las avispas braconídas se encuentran distribuidas en todo el mundo, y no presentan una preferencia por alguna región o hábitat en particular (Sharkey y Wahl 1993).

La longitud del cuerpo en los braconídeos varía desde menos de 1mm hasta 30 mm sin tomar en cuenta el ovopositor. Los miembros de esta familia se distinguen por tener los tergos metasomales dos y tres fusionados o la ausencia de una celda costal (costa, subcosta y radio fusionados en la mitad basal del ala anterior), la presencia de un trocanelo (el trocánter parece estar segmentado dos veces), la vena 1r-m del ala anterior usualmente tiene una separación basal de R1 y Rs y la ausencia de una vena 2m-cu en el ala anterior, excepto en el género *Apozyx* Mason (Wharton, 1998) (Fig. 1).

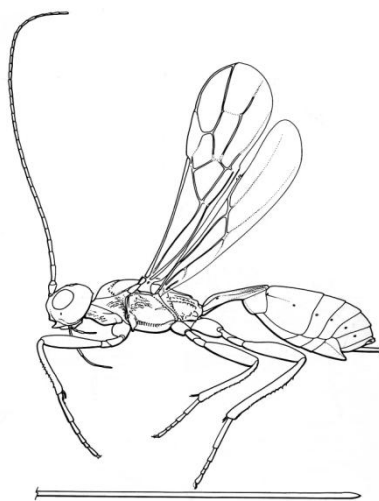


Figura 1. Esquema de un miembro de la subfamilia Doryctinae (Braconidae).

Los braconidos son generalmente parasitoides de otras especies de insectos, principalmente larvas de lepidópteros, coleópteros y dípteros (Wharton, 1998), pero se conocen especies parásitas de ninfas de insectos hemimetábolos, de adultos de insectos hemimetábolos y holometábolos (Sharkey, 1993), y en pocos casos, especies fitófagas (Austin y Dangerfield, 1997, 1998; Infante *et al.*, 1995; Marsh, 2002; Wharton y Hanson, 2005). Los braconidos son usualmente solitarios, pero el parasitismo gregario es también común, particularmente en las subfamilias Microgastrinae, Braconinae y Doryctinae (Wharton *et al.*, 1998).

La mayoría de las especies de braconidos son koinobiontes endoparásitos, es decir que el desarrollo del huésped continúa desde que es parasitado hasta su muerte, pero también se conocen un gran número de idiobiontes ectoparasitoides, donde el desarrollo del huésped se reduce o detiene después de ser parasitado (Sharkey, 1998). Los braconidos idiobiontes ectoparasitoides están representados principalmente por las subfamilias Braconinae, Hormiinae y Doryctinae, mientras que los koinobiontes endoparasitoides incluyen a todas las especies de las subfamilias Alysiinae, Microgastrinae y Opiinae, aunque existen excepciones en ambos casos (Wharton *et al.*, 1998).

Los braconidos koinobiontes están muy relacionados con los ciclos de vida de sus huéspedes, por lo que tienen rangos de huéspedes limitados, mientras que los idiobiontes, al no estar tan sincronizados con el ciclo de vida de su huésped tienen rangos de hospederos más amplios (Sharkey, 1993).

La familia Braconidae tradicionalmente se divide en dos grandes grupos: los ciclostomados y los que no presentan esta condición. La condición ciclostoma se presenta cuando la parte inferior del clípeo está retraída y el labrum es cóncavo, lo que forma una depresión ovalada por encima de las mandíbulas (Wharton, 1998) (Fig. 2).

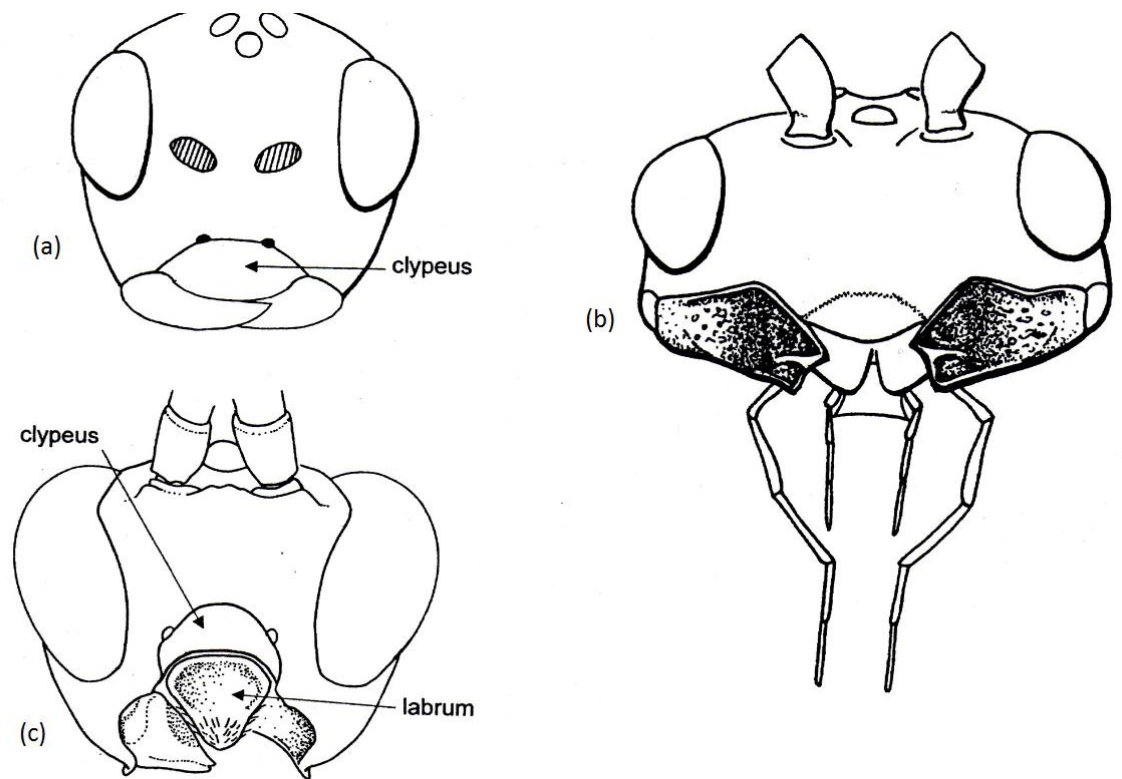


Figura. 2. (a) Cabeza, vista anterior. Condición no ciclostomada del cípeo y mandíbulas endodontas típicas; (b) mandíbulas exodontas; (c) condición ciclostoma del cípeo y labrum cóncavo (mandíbula izquierda removida).

Análisis filogenéticos recientes no obstante han revelado que algunos miembros del grupo de los ciclostomados han perdido ésta condición de manera secundaria, como por ejemplo las especies de la subfamilia Alysinae (Quicke y van Achterberg, 1992; Zaldívar-Riverón et al., 2006). Todos los miembros del grupo de los no ciclostomados son koinobiontes endoparasitoides, mientras que los ciclostomados presentan diferentes condiciones, es decir, koinobiontes, idiobiontes y especies ecto y endoparasitoides (Askew y Shaw, 1986; Godfray, 1993; Quicke, 1997), así como a todas las especies fitófagas (Zaldívar-Riverón et al., 2006, 2007, 2008). Wharton et al. (1998) reconoce 36 subfamilias de braconidos, de las cuales 23 son koinobiontes endoparasíticas, seis idiobiontes ectoparasíticas y una koinobionte ectoparasítica (tabla 1).

Subfamilia	No. géneros en el mundo	Biología
Alysinae	77	Koinobiontes, gregarias de dípteros (Muscomorpha fitófagos y saprófagos).
Aphidiinae	50	Koinobiontes, solitarias de Aphidoidea.
Apozyginae	1	Desconocida
Betylobraconinae	7	Desconocida
Braconinae	Alrededor de 200	Idiobiontes, gregarias de Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera (hormigas).
Doryctinae	Alrededor de 200	Idiobiontes, gregarias, parasitoides de Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera y Embiidina.
Exothecinae	5	Idiobiontes, solitarias, de Lepidoptera, Diptera y Coleoptera (minadores de hojas).
Gnamptodontinae	3	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera (Nepticulidae).
Hormiinae	20	Idiobiontes, gregarias de Lepidoptera.
Mesostoinae	7	Posiblemente Idiobiontes, solitarias de Cecidomyiidae.
Opiinae	17	Koinobiontes, solitarias de Diptera (Muscomorpha fitófagos).
Pambolinae	9	Idiobiontes, gregarias, de Lepidoptera, Coleoptera (constructores de estuches).
Rhysipolinae	3	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera (minadores de hojas).
Rhyssalinae	8	Idiobiontes, gregarias de Lepidoptera (enrolladores de hojas).
Rogadinae	53	Koinobiontes, gregarias de Lepidoptera.
Ypsistocerinae	3	Desconocida, está asociada a termiteros (Isóptera).
Agathidinae	52	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera.
Blacinae	13	Koinobiontes, solitarias de Coleoptera.
Cenocoeliinae	5	Koinobiontes, solitarias de Coleoptera.
Euphorinae	34	Koinobiontes, gregarias de ninfas y adultos de Psocoptera y Heteroptera; adultos de Neuroptera, Coleoptera e Hymenoptera.
Helconinae	40	Koinobiontes, solitarias de Coleoptera.
Homolobinae	5	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera.
Ichneutinae	9	Koinobiontes, solitarias de Hymenoptera (sínfitos) y Lepidoptera (minadores de hojas).
Macrocentrinae	10	Koinobiontes, gregarias de Lepidoptera
Meteorideinae	2	Koinobiontes, gregarias de Lepidoptera y Microgastrinae.
Meteorinae	2	Koinobiontes, gregarios de Lepidoptera y Coleoptera.
Microtypinae	3	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera
Orgilinae	9	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera
Sigalphinae	8	Koinobiontes, gregarias de Lepidoptera
Adeliinae	2	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera (Nepticulidae).
Cardiochilinae	16	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera
Cheloninae	11	Koinobiontes, solitarias de Lepidoptera
Dirrhopinae	1	Desconocida; criada en Lepidoptera (Nepticulidae)
Mendesellinae	2	Desconocida; criada en agallas de Lepidoptera
Microgastrinae	54	Koinobiontes, gregarias de Lepidoptera
Miracinae	1	Koinobionte, solitarias de Lepidoptera (Nepticulidae).

Tabla 1. Biología y número de géneros en el mundo de las distintas subfamilias de la familia Braconidae. Tomado de Hanson y Gauld (2006).

Otra clasificación de esta familia fue realizada por Sharkey (1993), quien reconoció únicamente 29 subfamilias. Por otra parte, un análisis filogenético reciente basado en caracteres moleculares y morfológicos reconoció un total de 18 subfamilias dentro del grupo de los ciclostomos, incluyendo a varios taxones pequeños que anteriormente habían sido agrupados dentro de otras subfamilias (p. ej. *Rhysipolinae*, *Lysiterminae*, *Pambolinae*) (Zaldívar-Riverón *et al*, 2006) (tabla 2).

Subfamilias de Braconidae	
Adeliinae ^{1,2}	Ichneutinae ^{1,2}
Agathidinae ^{1,2}	Khoikhoiinae ²
Alysiinae ^{1,2,3}	Lysiterminae ³
Amicrocentrinae ²	Macrocentrinae ^{1,2}
Aphidinae ^{1,2,3}	Meteoridiinae ²
Apozyginae ^{1,2}	Meteorinae ^{1,2}
Auphorinae ²	Microgastrinae ^{1,2}
Betylobraconinae ^{1,3}	Mendesellinae ¹
Blacinae ¹	Microtypinae ¹
Braconinae ^{1,2,3}	Mesostoinae ^{1,3}
Cenocoelinae ¹	Miracinae ^{1,2}
Cardiochilinae ^{1,2}	Neoneurinae ^{1,2}
Cheloninae ^{1,2}	Opiinae ^{1,2,3}
Doryctinae ^{1,2,3}	Orgilinae ^{1,2}
Dirrhopininae ^{1,2}	Pambolinae ³
Euphorinae ^{1,3}	Rhyssalinae ³
Exothecinae ³	Rhysipolinae ³
Gnamptodontinae ^{1,2,3}	Rogadinae ^{1,2,3}
Helconinae ^{1,2,3}	Sigalphinae ^{1,2}
Homolobinae ^{1,2}	Telengainae ³
Hormiinae ^{1,3}	Trachypetinae ²
Ichneutinae ^{1,2}	Xiphozelinae ²
	Ypsistocerinae ¹

Tabla 2. Lista con las subfamilias de Braconidae reconocidas por Wharton¹ (1998), Sharkey² (1993) y Zaldívar-Riverón³ *et al.* (2006).

1.3 Subfamilia Doryctinae

La subfamilia Doryctinae es una de las más diversas de la familia Braconidae, con alrededor de 1,000 especies descritas y más de 180 géneros reconocidos (Shenefelt y Marsh, 1976; Belokobylskij *et al.*, 2004). Los doryctinos son principalmente tropicales y subtropicales (Shenefelt y Marsh, 1976). Estas avispa son principalmente idiobiontes ectoparasitoides de larvas xilófagas de coleópteros (Belokobylskij *et al.*, 2004), pero también parasitan otros ordenes

como Lepidoptera e Hymenoptera (Cushman 1923; Belokobylskij 2002). Además, algunos géneros son fitófagos formadores de agallas en higueras, fabáceas y aráceas (Wharton y Hanson, 2005; Hanson y Gauld, 2006; Zaldívar Riverón *et al.*, 2007).

Los miembros de la subfamilia Doryctinae son ciclostomados, el clípeo tiene un margen apical cóncavo, mandíbula endodonta con dos dientes y las mandíbulas se tocan cuando estas se cierran. Presentan una hilera de quetobotreas (setas con forma de clavija) en el margen anterior de la tibia anterior; pueden o no presentar una protuberancia o diente en la parte superior de la coxa además de que muestran carinas occipitales y dorsales (Quicke y Achterberg, 1990) (Fig. 3). La vena M+CU del ala posterior es relativamente más larga que la vena 1-M en algunos casos, además de mostrar la vena 2m-cu en el ala posterior (Fig. 4). Las hembras tienen un doble nodo en el ápice del ovopositor y los machos presentan aros basales particularmente elongados en sus genitales (Quicke y Achterberg 1992) (Fig.5).

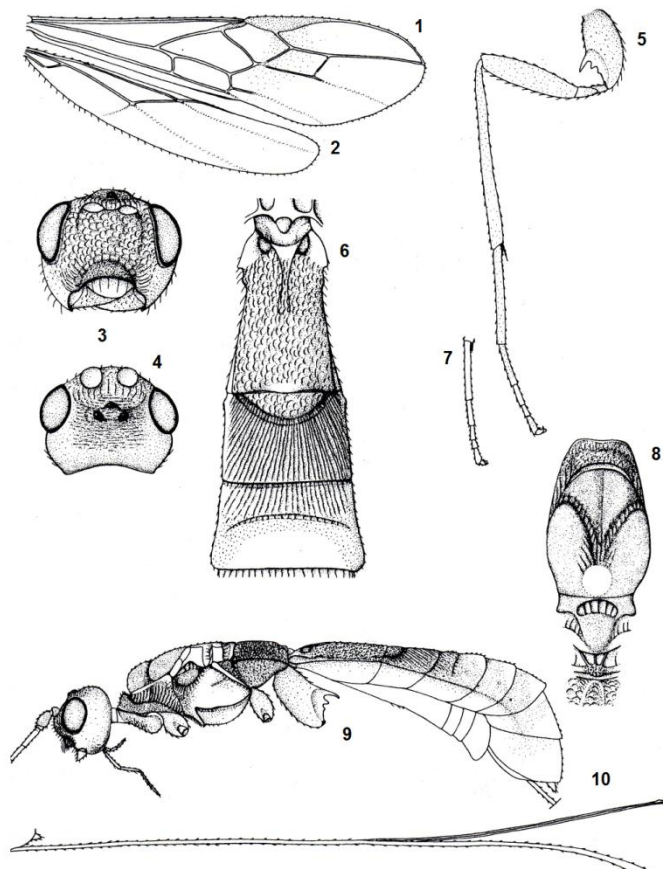


Figura 3. (1-10). Esquemización de un miembro de la subfamilia Doryctinae: Doryctini: *Priosphys biannulatus* ♀. 1, ala anterior; 2, ala posterior; 3, condición ciclostomada del labrum inferior; 4, presencia de ocelos; 5, diente en la parte media de la coxa; 6, tergos metasomales con carinas dorsales; 7, tarsos 2, 3 y 4 más largos que; 8, carinas occipitales; 9, carinas mesopleurales; 10, ovipositor usualmente más largo que el cuerpo.

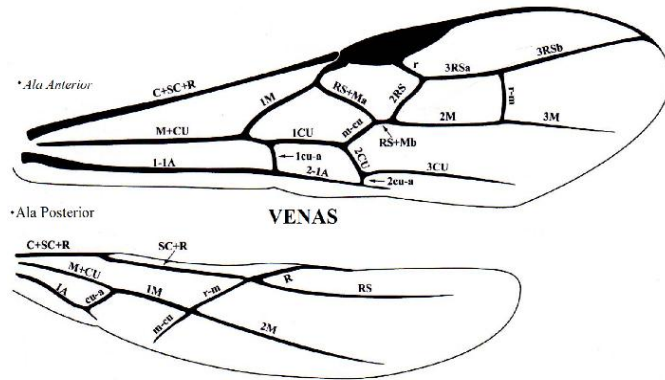


Figura 4. Esquema de las alas anterior y posterior de una especie de la subfamilia Doryctinae.

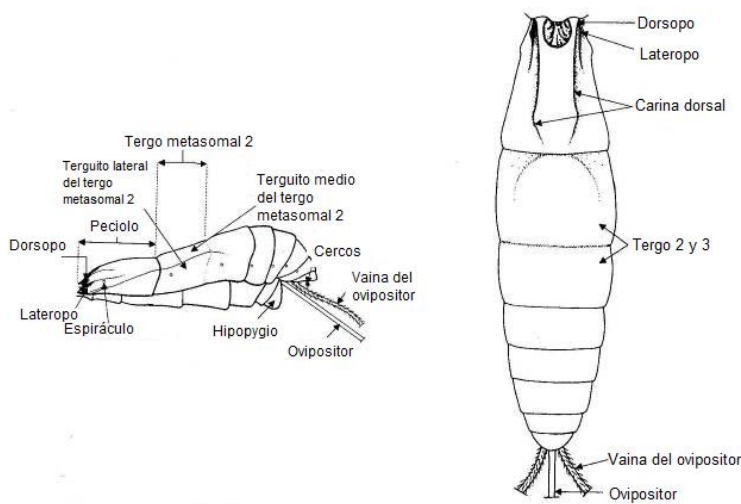


Figura 5. Vista lateral y dorsal del abdomen de un doryctino ♀.

La clasificación a nivel supraespecífico dentro de la subfamilia Doryctinae ha sido objeto de diversos trabajos, sin que a la fecha se haya resuelto el número, extensión y límites de la mayoría de sus tribus. Se piensa que la subfamilia Doryctinae está muy relacionada con Braconinae ya que algunos caracteres presentes en doryctinos, tales como las quetas, se encuentran también en Braconinae. En caso de que estos fueran apomórficos o plesiomórficos podrían indicar una relación cercana entre las subfamilias (Quicke y Achterberg, 1990).

El trabajo taxonómico que se tiene de la subfamilia Doryctinae es escaso, esto debido a que se cuenta con muy poca información acerca de los géneros del Neotrópico, además de que la morfología externa no ha sido bien explorada en todos los géneros de doryctinos. En otros casos, la morfología

externa es muy divergente, por lo que definir características para identificar especies es complicado (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2008).

En los trabajos de Sharkey *et al* (1993), Shaw (1995,) y Achterberg, (1993) se encuentran las principales claves para identificar subfamilias de Braconidae. Los catálogos de Shenefelt y Marsh (1976), Mackauer (1968), y Fischer (1987) también facilitan la descripción de las subfamilias de Braconidae. Los trabajos más importantes para identificar los géneros de Doryctinae del Neotrópicos son los de Marsh (2002) y Wharton *et al.* (1998); pero hasta la fecha no existe ninguna clave publicada para las especies de doryctinos.

1.4 Diversidad de Doryctinos en el mundo y trabajos en México relacionados con este grupo de estudio.

Las avispas parasitoides juegan un papel muy importante en el control de las poblaciones de otros insectos. En particular las avispas bracónidas pueden ser utilizadas como grupo parámetro para estimar la biodiversidad de ecosistemas natural y perturbados (Delfín y León 1997; Delfín y Burgos 2000; Chay-Hernández *et al.*, 2006). Sin embargo, el conocimiento de la fauna de muchos grupos de bracónidos aún es poco en la región del Neotrópico en relación con la región Neártica. Los pocos trabajos que existen para el Neotrópico se restringen generalmente a dos países, Costa Rica y México (Figuroa-De la Rosa *et al.*, 2003).

En el caso de México, existen algunos trabajos sobre la familia Braconidae pero no hay ningún estudio que se enfoque con la subfamilia Doryctinae, esto a pesar de ser una de las subfamilias más diversas de Braconidae. Únicamente existen algunos trabajos que reportan los géneros de la familia Braconidae en general para algunos estados (Tabla 6). Tal es el caso de un estudio faunístico de Braconidae para el estado de Guanajuato (Sánchez-García *et al.*, 1998), En dicho estudio se encontraron 19 subfamilias y 61 géneros de Braconidae, y en el caso de la subfamilia Doryctinae se registraron 125 ejemplares pertenecientes a cuatro géneros y 16 especies. En

este estudio, el género con el mayor número de especies fue *Heterospilus*, seguido de *Leluthia*, *Stenocorse* y *Allorhogas*.

Otro trabajo faunístico en territorio mexicano en donde se registra a la subfamilia Doryctinae es en la tesis doctoral de Saavedra (2009). Este estudio se realizó en el estado de Hidalgo y se identificaron 2,261 ejemplares pertenecientes a 19 subfamilias. De estas subfamilias se registró un total de 188 morfoespecies y 23 especies, de las cuales a la subfamilia Doryctinae pertenecieron tres géneros y cuatro especies. Los tres géneros registrados en este trabajo fueron *Ecphylus*, *Hecabolus* y *Heterospilus*.

En el estudio faunístico de Delfín y León (2002) en el estado de Yucatán se registraron los siguientes siete géneros para la subfamilia Doryctinae: *Stenocorse* (una especie), *Rhaconotus* (cinco especies), *Parallorhogas* (una especie), *Notiosphatius* (una especie), *Acrophasmus* (una especie), *heterospilus* (nueve especies) y *Allorhogas* (una especie). Morales (2007) por otra parte investigó la diversidad de Braconidos presentes en Pluma Hidalgo, Oaxaca, en donde encontró 11 géneros.

Otro estudio se realizó para la región de Yucatán (Chay y Delfín, 2006) e investigó la diversidad de la familia Ichneumonoidea en un área agrícola. En este estudio, los autores buscaron conocer los cambios en la diversidad de avispas con respecto a los cambios en la estructura de la vegetación adyacente a un cultivo. Los sitios de colecta fueron divididos en tres ambientes distintos: sin vegetación alrededor del cultivo (NSV), con parches remanentes de vegetación (WSV) y con parches de vegetación secundaria de siete años de antigüedad (SV). En total se recolectaron 1,715 ejemplares pertenecientes a 21 subfamilias, 84 géneros y 342 especies, siendo la familia Braconidae la que obtuvo la mayor diversidad, abundancia y riqueza de especies. Con respecto a la subfamilia Doryctinae, en la condición NSV se encontraron cinco géneros, 20 especies y 28 especímenes; en la condición WSV seis géneros, 26 especies y 30 ejemplares, y la condición SV arrojó dos géneros, cinco especies y 10 ejemplares. Los autores concluyeron sugiriendo que la superfamilia Ichneumonoidea podría ser una buena indicadora del grado de disturbio que tiene un ambiente dado.

Por último, Martínez González (2008) realizó un estudio faunístico de Braconidae en Santa María Yavesía, en la Sierra Norte de Oaxaca. Las

colectas para este estudio se llevaron a cabo cada mes en una zona de bosque de pino-encino, en una zona de huertas frutales y una zona de milpa, empleando redes de golpeo y trampas amarillas de agosto del 2006 a julio del 2007. En total se obtuvieron 1,540 ejemplares, de los cuales 1,270 cayeron en las trampas amarillas y 270 con la red de golpeo. Las superfamilias más abundantes colectadas en cada uno de los sitios y con los dos tipos de trampas fueron Chalcidoidea, con 289 e Ichneumunoidea, con 620 ejemplares. Dentro de Ichneumonoidea, se recolectaron 371 ejemplares de la familia Braconidae pertenecientes a 14 subfamilias y 32 géneros. Con respecto a la subfamilia Doryctinae, el autor colectó cinco ejemplares con la trampa de platos amarillos y que pertenecen al género de *Heterospilus* y también colectó cinco ejemplares más del género *Spathius* con la red entomológica.

Géneros encontrados en la estación biológica de Chamela	Géneros encontrados en otros trabajos realizados en México
<i>Allorhogas</i>	Oaxaca , en Sánchez et al., 2003 Guanajuato , en Sánchez et al., 1998
<i>Caenophanes</i>	Sin registro
<i>Callihormius</i>	Yucatán , en Delfín et al., 2002
<i>Coiba</i>	Sin registro
<i>Curtisella</i>	Yucatán , en Delfín et al., 2002
<i>Ecphylyus</i>	Yucatán , en Delfín et al., 2002 Oaxaca , en Morales et al., 2007 Hidalgo , en Tesis Saavedra Aguilar M., 2009
<i>Glyptocolastes</i>	Oaxaca , en Sánchez et al., 2003
<i>Hansonorum</i>	Sin registro
<i>Hecabolus</i>	Yucatán , en Delfín et al., 2002 Oaxaca , en Morales et al., 2007 Hidalgo , en Tesis Saavedra Aguilar M., 2009
<i>Heterospilus</i>	Yucatán , en Delfín et al., 2002 Oaxaca , en Morales et al., 2007 Hidalgo , en Tesis Saavedra Aguilar M., 2009 Oaxaca , en Sánchez et al., 2003 Guanajuato , en Sánchez et al., 1998
<i>Heterospathius</i>	Sin registro
<i>lare</i>	Sin registro
<i>Janzenia</i>	Oaxaca , en Morales et al., 2007 Yucatán , en Delfín et al., 2002
<i>Leluthia</i>	Oaxaca , en Morales et al., 2007 Yucatán , en Delfín et al., 2002 Guanajuato , en Sánchez et al., 1998
<i>Masonius</i>	Sin registro
<i>Neoheterospilus</i>	Sin registro
<i>Notiospathius</i>	Oaxaca , en Sánchez et al., 2003
<i>Odontobracon</i>	Oaxaca , en Sánchez et al., 2003 Yucatán , en Delfín et al., 2002

Panama	Sin registro
Psenobolus	Sin registro
Ptesimogaster	Sin registro
Rhaconotus	Yucatán, en Delfín et al., 2002
Spathius	Oaxaca, en Sánchez et al., 2003 Oaxaca, en Morales et al., 2007 Yucatán, en Delfín et al., 2002
Vanderentiullus	Sin registro
Whitfieldiellus	Yucatán, en Delfín et al., 2002

Tabla 6. Relación de los géneros encontrados en la Estación Biológica de Chamela-Cuixmala y los géneros que se han encontrado en otros trabajos realizados en México.

1.5 El código de barras de ADN de la vida

El código de barras de la vida es una herramienta molecular que emplea secuencias de ADN de regiones genéticas estandarizadas. Dichas secuencias de ADN ayudan a identificar especies de organismos debido a que su divergencia nucleotídica es mucho menor entre individuos de una sola especie que entre las especies que están estrechamente relacionadas (Hebert *et al.*, 2003). Para llevar a cabo esta identificación en animales se utiliza una secuencia genética de 658 pares de bases presente en las mitocondrias y que se hereda por medio de la madre, responsable de producir una enzima llamada citocromo c oxidasa I (COI). El gen COI contiene una señal filogenética de gran rango como ningún otro gen mitocondrial, por lo que constituye la principal secuencia del código de barras para el reino animal con excepción del phylum Cnidaria (Hebert et al., 2003; Savolainen *et al.*, 2005).

Debido a la alta diversidad de especies que podemos encontrar en el mundo, la descripción de especies puede ser una tarea dura y los matices que distingue a una especie y otra a menudo da como resultado que los taxónomos se especialicen en un grupo de estrecha relación, por lo que se necesitaría una gran cantidad de taxónomos para poder describir toda la diversidad del planeta. El código de barras de ADN ofrece una alternativa viable, haciendo eficiente la descripción de especies ayudando a corroborar los resultados en los casos donde las claves de identificación pudieran tener dudas respecto a la identificación o en los casos donde se pudiera presentar plasticidad fenotípica o variabilidad genética en una misma especie y los caracteres morfológicos no son claros o no se cuenta con alguna clave de identificación (Monaghan *et al.*, 2009). En el caso de muchos insectos las claves de identificación están

diseñadas únicamente para una etapa en particular de la vida de los organismos, o solo se cuenta con la clave del macho o la hembra por lo que el código de barras resulta de gran utilidad en la identificación de los organismos en estos casos (Hebert *et al.*, 2003).

Las desventajas que tiene el código de barras de ADN en la identificación de especies es que el mtADN no es funcional para todos los organismos vivos. Por ejemplo, en las plantas la tasa de sustitución de nucleótidos es mucho más lenta que en los animales. Para este caso sin embargo se ha intentado utilizar varios fragmentos de otros genes que en combinación podrían dar resultados alentadores (Kress *et al.*, 2005; Fazekas *et al.*, 2008). Otra desventaja del código de barras es la obtención de falsos positivos y falsos negativos es decir, que se obtengan más o menos especies de lo que en realidad son; por lo que si no se emplea correctamente esta herramienta se podrían obtener nuevas especies que no son reales o en su defecto no detectar diferencias entre las especies que fácilmente podrían ser discriminadas por otros medios. (Packer *et al.*, 2009).

1.6 Códigos de barras en Hymenoptera

El código de barras de la vida actualmente se está implementando en diversos grupos de animales, y el de los himenópteros no es una excepción. Por ejemplo, Sheffield y colaboradores en el 2009 utilizaron el código de barras de la vida para identificar especies de Apoidea en Nueva Escocia, Canadá. En ese trabajo se encontró que las claves de identificación suelen ser deficientes en estos grupos ya que muchas veces se cuenta con ejemplares de un solo sexo. En este caso el código de barras de la vida logró resolver los problemas taxonómicos existentes. Además de que esta herramienta molecular puede ayudar a resolver dudas respecto a los diferentes estadios de los organismos, de tal forma que los adultos puedan ser ligados con sus larvas y así saber si se trata de la misma especie. Los autores proponen que el código de barras es una herramienta muy completa ya que permite también identificar asociaciones ecológicas entre los organismos; tal es el caso de las abejas cleptoparásitas (i.e. forma de vida en donde un animal se aprovecha de presas que otro animal ha capturado) que están asociadas a los nidos de otras abejas y aprovechando los recursos de éstas.

En uno de los pocos estudios con el código de barras de la vida para avispas de la familia Braconidae, Smith *et al.* (2008) investigaron la diversidad de la subfamilia de avispas Microgastrine en el área de conservación de Guanacaste, Costa Rica. En este estudio los autores examinaron seis géneros de microgastrinos así como datos de los huéspedes recolectados por más de 30 años. El análisis morfológico indicó la presencia de 171 especies de microgastrinos; no obstante, el estudio combinado de datos de historia natural, morfología y secuencias de ADN ayudó a discriminar un total de 313 especies. Además, se pudieron realizar confirmaciones de los huéspedes para las especies de avispas discriminadas, y se encontró que, a diferencia de lo que se pensaba anteriormente, en la mayoría de los casos las especies parasitoides son especialistas para una o pocas especies de hospederos.

1.7 Justificación del estudio

Con este trabajo se busca conocer la diversidad de especies de avispas parasitoides de la subfamilia Doryctinae en la región de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, empleando para ello el código de barras de ADN de la vida. A la fecha, esta región no cuenta con un registro detallado de la mayor parte de los grupos de himenópteros, incluyendo a las familias más diversas, Braconidae e Ichneumonidae (Gaston *et al.*, 1969), de ahí la importancia de hacer una lista de sus diferentes grupos, el cual podrá servir para realizar trabajos posteriores de taxonomía, conservación, y ecología, entre otros.

1.8 Objetivo general

- Determinar la diversidad de especies de la subfamilia Doryctinae en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala con la ayuda del código de barras del ADN.

1.9 Objetivos Particulares

- Investigar la diversidad de géneros pertenecientes a la subfamilia Doryctinae para la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala.
- Conocer el número de especies para cada género de doryctinos con la ayuda del código de barras de ADN de la vida.

- Investigar la técnica de recolecta más adecuada para capturar especies de doryctinos en la región de estudio.

2. MÉTODO

2.1 Área de Estudio

La reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala (RBCC) está localizada en la costa del pacífico mexicano en el estado de Jalisco, (entre 19°29' y 19°34' Norte y 104°58' y 105° 04' Oeste), está delimitada por el río Cuixmala al sur y el ejido San mateo al norte y aa altitud va de 0 a 500 msnm. La reserva cuenta con un área de 13,142 hectáreas, de las cuales 8208 pertenecen a las zonas núcleo y 4934 ha a la zona de amortiguamiento (DOF, 1993) (Fig. 6). La zona núcleo cuenta con cuatro secciones que representan el 80 % de la superficie de la reserva. Esta zona está sujeta a protección estricta y la única actividad permitida es la investigación científica, los objetivos del manejo de esta zona son la protección y eliminación de factores de perturbación (Ceballos *et al.*, 1999). La zona de amortiguamiento de la reserva consta de 4,934 ha, incluye áreas naturales poco alteradas y áreas modificadas por el hombre. Esta zona promueve la investigación, difusión y el apoyo a comunidades vecinas a la reserva (Ceballos *et al.*, 1999).



Figura 6. Mapas con la ubicación geográfica de la reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala en el estado de Jalisco.

2.2 Tipo de vegetación de la zona de estudio

La vegetación que prevalece es el bosque tropical caducifolio que es característico de la Costa del Pacífico (Rzedoswki, 1978), pero también se observan pequeñas áreas de selva mediana subperenifolia, manglar, vegetación acuática de las lagunas y esteros, dunas costeras y matorral xerófilo (DOF, 1993). El bosque tropical caducifolio se caracteriza principalmente porque pierde sus hojas durante un periodo de cinco y ocho meses del año, el estrato arbóreo presenta una altura de ocho a 12 m, ramificándose a baja altura (Trejo y Dirzo, 2000) (Fig. 7).



Figura 7. Fotografías mostrando la vegetación tanto en época de lluvias como de secas en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala.

En Chamela la flora es muy diversa y tiene un alto contenido de especies endémicas; entre la vegetación característica de la reserva podemos encontrar árboles como, *Sciadodendron excelsum*, *Jatropha chamelensis* y *Celanodendron mexicanum*, cactáceas como *Peniocereus cuixmalensis* y *Opuntia excelsa*, y otras especies como el *Agave colimana* (Lott, 2002). La vegetación está dividida dentro de ocho categorías: 1) bosque deciduo de tierras bajas, que es el más extenso; 2) arbustos xerofíticos, que se encuentran cerca del océano; 3) bosque semideciduo mediano que se ubica en parches comúnmente en cañones; 4) manglares que se encuentran en regiones de Cuixmala cercanas al océano, dominando las especies como *L. racemosa* y *R. mangle*; 5) bosque Manzanillera dominado por el árbol maquinel, conocido como el árbol de la guayaba venenosa (*Hippomane mancinella*); 6) vegetación riverense distribuida a lo largo del río Cuixmala y arroyos de Chamela; 7) cañas y vegetación acuática que se encuentran en Cuixmala con especies

representativas como: *Typha latifolia*, *Eichornia crassipes* y *Nymphaea ampla*; 8) vegetación de dunas costeras, están localizadas en áreas cercanas al océano; 9) pastizales, están restringidos a suelos arenosos y fueron muy afectados por el pastoreo antes ser creada la reserva. (Rzedowski 1978 y Ceballos *et al.*, 1999).

2.3 Tipo de clima

El clima que prevalece es cálido sub-húmedo según la clasificación de Köpen (García 1988), la temperatura media anual es de 24.6 °C y la humedad atmosférica relativa se mantiene por encima de 65 % todo el año debido a la cercanía con el mar (Camou, 2001). La precipitación es de 788 mm, con variaciones anuales debido a patrones de incidencia de ciclones tropicales en la parte central de la costa del Pacífico (García-Oliva *et al.* 1991). La estacionalidad es muy marcada con periodos de lluvia de julio a octubre y de *sequía* de noviembre a junio.

2.4 Trabajo de campo

El trabajo de campo consistió en cinco salidas de una semana de duración cada una durante los meses de junio (23-27), septiembre (3-7), y noviembre (18-21) de 2009, así como febrero (20-25) y marzo-abril (28-3) de 2010. Se muestrearon 13 sitios localizados dentro de la estación de Biología propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México en Chamela y en terrenos propiedad de la Fundación-Cuixmala. También se colocó una trampa Malaise del 1 al 30 de septiembre, 1 al 31 de octubre y 1 al 21 de noviembre de 2009.

En la figura 8 se pueden observar las veredas de la Estación Biológica de Chamela, así como los puntos donde se llevaron a cabo los muestreos y las trampas que se utilizaron para la captura del material entomológico.

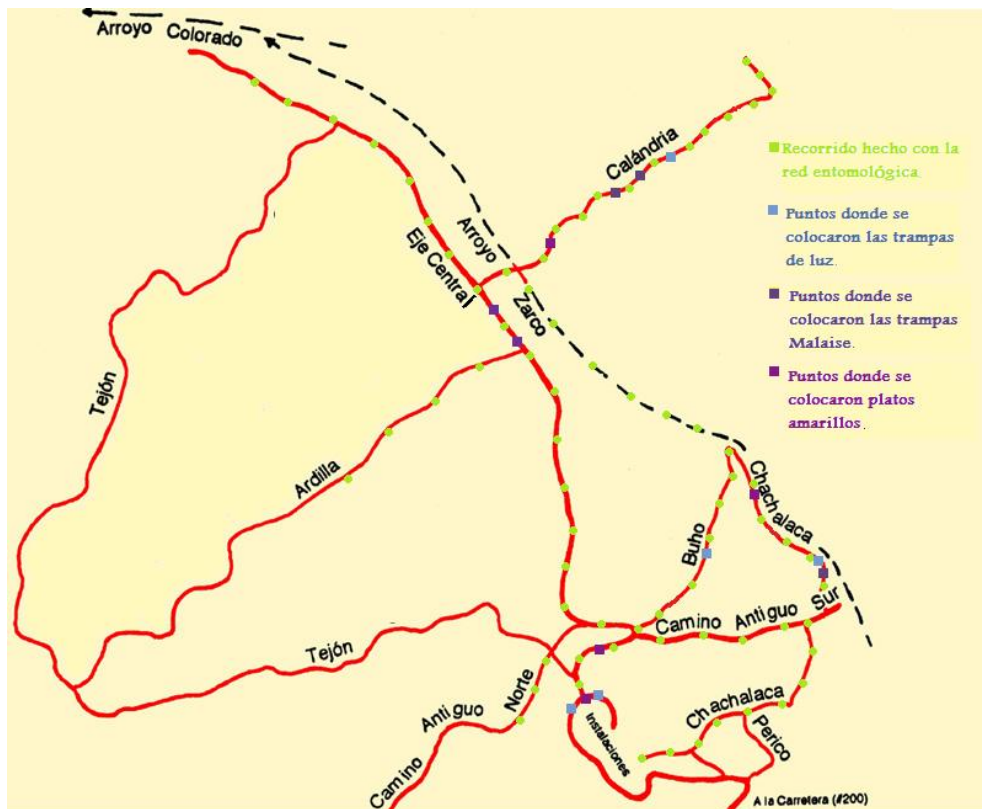


Figura 8. Mapa con las veredas principales de la estación Biológica de Chamela, así como los puntos donde se llevaron a cabo los muestreos.

En cada punto de muestreo se tomaron las coordenadas y la altitud con la ayuda de un GPS. En la tabla 3 se muestran los sitios de recolecta, sus coordenadas, altitud y el método de colecta que se utilizó en cada sitio.

LOCALIDAD	COORDENADAS	ALTITUD	TIPO DE TRAMPA
Cerca a la estación	19.4985/105.0441	92	YPT
Camino Zarco/Chachalaca	19.4956/105.0393	30	Red entomológica
Camino búho	19.4990/105.0412 19.4988/105.0404	74/65	Red entomológica, Trampa de luz, Malaise
Camino chachalaca	19.4993/105.0383 19.4978/105.0445	56/120	Malaise, Red entomológica, Trampa de luz, YPT
Atrás del laboratorio	19.4981/105.0444	95	Trampa de luz
Camino calandria	19.5048/105.0378	45	Malaise, YPT, Trampa de luz, Red entomológica
Eje central/camino calandria	19.5002/105.0425 19.5039/105.0335	49/52	Red entomológica
Camino calandria/chachalaca	19.5049/105.0377 19.4993/105.03833	52/56	Red entomológica

Fundación-Cuixmala / poza del jaguar	19.4292/104.9796	66	Red entomológica
Fundación-Cuixmala/El sendero	19.4192/104.9732	61	Red entomológica, Malaise
Atrás del comedor	19.4978/105.0445	120	Trampa de luz
Camino ardilla			Red entomológica
Eje central	19.5085/105.0366	32	Red entomológica
Calandria (arroyo calandria)	19.5048/105.0378 19.5036/105.0364	45/62	Red entomológica
Camino calandria (el mirador)	19.5048/105.0378 19.5002/105.0353	45/109	Red entomológica
Camino búho/chachalaca	19.4991/105.0421 19.4978/105.0444	68/106	Red entomológica
Camino Antiguo	19.5047/105.367	59	Red entomológica

Tabla 3. Sitios de recolecta, coordenadas y método de recolecta que se utilizó en cada salida.

2.5 Técnicas de recolecta

Las recolectas del material entomológico se llevaron a cabo empleando cuatro técnicas de colecta, las cuales se describen a continuación:

Trampa Malaise. Las trampas Malaise que fueron utilizadas corresponden al modelo Townes (Marris House Nets, London®). Este tipo de trampa se compone de una malla fina de color blanco o negro en forma de pantalla y en un extremo superior tiene un orificio en el que está conectado un tubo por donde pasan los insectos que se interceptan en la malla, para luego caer a un contenedor con alcohol al 70% Fig. 9. En cada salida se colocaron dos trampas en lugares al azar, las trampas permanecieron por toda una semana y después se vertieron los insectos que cayeron en una bolsa para su posterior separación y análisis en el laboratorio.

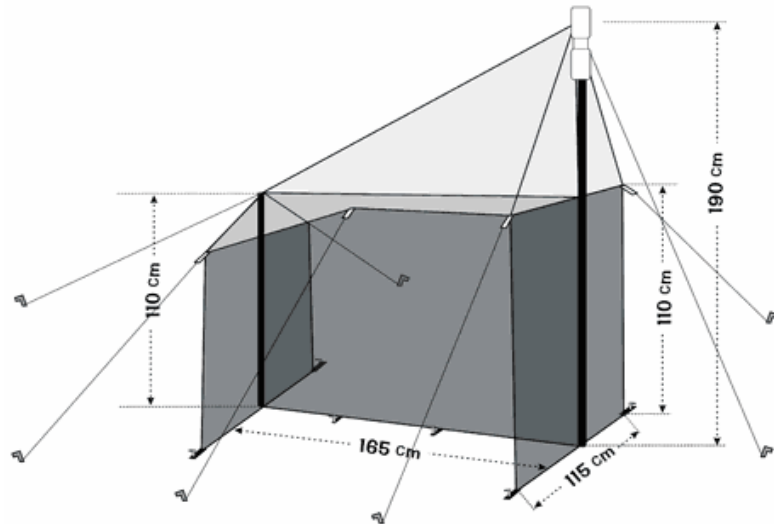


Figura 9. Esquema de una trampa Malaise.

Trampa de luz. Ésta trampa está diseñada para insectos nocturnos, que son atraídos por la luz; se compone de un foco de luz negra con un capuchón hecho de malla fina, el cual está previamente rociado con insecticida; colocado en forma vertical y dentro de un cilindro de malla, que en la parte inferior tiene un contenedor de plástico con agua y jabón. Los insectos atraviesan la malla y caen dentro del contenedor (Fig. 10). Posteriormente se quita el contenedor y se vierte el líquido en un colador para quitar el exceso de agua con jabón y después los insectos se enjuagan con agua limpia y se colocan en bolsas con alcohol al 70%.



Figura 10. Trampa de luz colocada en el camino calandria en la estación biológica de Chamela, UNAM.

Trampas amarillas (YPT). También se utilizó el muestreo por atracción utilizando trampas de color amarillo de 20 cm de diámetro por 4 cm de profundidad. Para ello se colocaron 150 platos amarillos por colecta con una mezcla de agua y jabón para así disminuir la tensión superficial y permitir que los insectos se sumergieran en el fondo. Los platos se colocaron a nivel del suelo en grupos de seis y a una distancia de 5 m entre un grupo y otro, según lo sugerido por Droege (2006). Después de dos días las muestras se colaron para quitar el exceso de la mezcla de agua y jabón, luego se enjuagaron y se colocaron en bolsas con alcohol al 70 %. Esta técnica atrae generalmente insectos que viven en el suelo y parasitoides que se encuentran asociados a estos (Fig. 11).



Figura 11. Platos amarillos colocados en el camino chachalaca, en la estación Biológica de Chamela, UNAM en el estado de Jalisco.

Red entomológica. La captura con redes entomológicas se realizó haciendo recorridos diarios sobre el terreno de la reserva utilizando por lo menos cuatro redes al menos durante cuatro horas por día. Se barrieron horizontalmente las orillas de la vegetación y de troncos en descomposición. Después de 10 minutos el contenido de cada red se vació a una bolsa con alcohol al 96% con la ayuda de un aspirador de insectos (Fig. 12).



Figura 12. Colecta de avispas con red entomológica en la poza, Fundación-Cuixmala.

2.6 Identificación del material entomológico

Todas las bolsas con las muestras se refrigeraron a -20°C con la finalidad de evitar que se degradara el ADN. Para separar e identificar el material, se utilizó un microscopio estereoscópico, una charola de separación, un pincel y unas pinzas; el material separado e identificado se colocó en tubos previamente etiquetados con alcohol al 100% (sin desnaturalizar) a -20°C , para su posterior análisis molecular; teniendo seleccionados los ejemplares de avispas se identificó la subfamilia doryctinae empleando la clave de subfamilias de Braconidae de Sharkey (1998) y la identificación hasta género se realizó con las claves taxonómicas de Marsh (1998) y Marsh (2002), con base en caracteres morfológicos.

2.7 Obtención de secuencias de ADN

Para la extracción de ADN se removió una pata de cada espécimen, cada una se colocó en uno de los pozos de una placa de lisis de 96 pozos y subsecuentemente fue enviada a la Universidad de Guelph, para la extracción, amplificación y secuenciación del ADN. Para todas las muestras, los extractos de ADN totales fueron obtenidos usando el protocolo estandarizado descrito en Ivanova *et al.* (2006). En este protocolo, los extractos se resuspendieron en 20-30 μl de dH_2O y posteriormente una región de 658 pares de bases cerca del extremo 5' correspondiente al marcador de DNA estándar del código de barras de animales (gen mitocondrial citocromo oxidasa I) fue amplificada usando los primers LepF1/LepRI. En los casos en donde un producto de 658 pb no fue exitosamente generado, se emplearon los primers LCO1490/HCO2198. Estos últimos primers recuperan un fragmento un poco más corto (aproximadamente 50 pares de bases menos) que los primers LepF1/LepRI. Los primers LepF1/LepRI fueron diseñados por Hebert *et al.* (2004) (LEP-F1: 5'-ATT CAA CCA ATC ATA AAG ATA T-3'; LEP-R1: 5'-TAA ACT TCT GGA TGT CCA AAA A-3'). Los primers LCO1490/HCO2198 fueron diseñados por Foster *et al.*, 1994 (LCO: 5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'; HCO: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3').

Las reacciones en cadena de polimerasa se llevaron a cabo en volúmenes de reacción de 12.5 μl conteniendo: 2.5mm MgCl_2 , 1.25 pm de cada primer, 50 μm dNTPs, 10mm Tris-HCl (pH 8.3), 50 mm KCl, 10-20 ng (1-2

microlitros) de DNA genómico y 0.3 U de Taq polimerasa (Platinum Taq DNA Polymerase; Invitrogen) usando un termociclado de un ciclo de 2 min a 94°C, cinco ciclos de 40 s a 94°C, 40 s a 45°C y 1 min a 72°C, seguido de 36 ciclos de 40 s a 94°C, 40 s a 51°C, y 1 min a 72°C, con un paso final de 5 min a 72°C. Los productos fueron visualizados en un sistema de 96 pozos de gel de agarosa 2% E-Gel (Invitrogen®). Posteriormente los fragmentos de ADN previamente marcados fueron secuenciados en el secuenciador automático ABI 3730xl (Applied Biosystems®).

Las secuencias y la información de todos los especímenes estarán disponibles en el archivo de proyecto ASDOR en la sección de proyectos publicados del sistema de datos del código de barras de la vida (www.barcodinglife.com) y también en la base de datos de GenBank (números de acceso HM434309-544, HM420734-5).

2.8 Análisis para delimitar especies

Todas las secuencias no tuvieron inserciones/delecciones y pudieron ser alineadas visualmente con el programa BioEdit (Hall, 1999). Los límites entre especies fueron evaluados utilizando el modelo “general mixed Yule-Coalescent” (GMYC; Pons *et al.*, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007), el cual requiere una topología totalmente resuelta con longitudes de ramas. Para ello se realizó un análisis Bayesiano utilizando la versión 1.5.3 BEAST (Drummond y Rambaut 2007) con el fin de reconstruir una topología totalmente resuelta con estimaciones de longitudes de las ramas. Todos los haplotipos duplicados se eliminaron con el programa COLAPSE versión 1.2 (Posada, 2004) antes de realizar el análisis bayesiano. El análisis bayesiano utilizó un 'reloj relajado' (“relaxed clock”) lognormal, y las longitudes de las ramas se estimaron empleando un 'previo coalescente' (“coalescent prior”). Estudios previos han encontrado que el previo coalescente obtiene resultados más óptimos para la estimación de longitudes de las ramas en comparación con el previo de Yules (Monaghan *et al.*, 2009). El modelo de evolución empleado para las secuencias fue el GTR + I+ Γ .

El análisis Bayesiano se ejecutó por 20 millones de generaciones, y el muestreo de árboles se efectuó cada 1,000 generaciones. La asíntota

("stationarity") de los valores de likelihood de los árboles muestreados se detectó que ocurrió después de las 700,000 generaciones empleando el programa Tracer versión 1.4 (Rambaut y Drumond, 2007). No obstante, se siguió un enfoque conservador y se eliminaron los árboles muestreados durante las primeros 10 millones de generaciones. Los árboles restantes se utilizaron para construir un árbol con probabilidades posteriores usando el criterio 'clado con máxima credibilidad' ("maximum credibility clade") con el programa TreeAnnotator versión 1.5.3 (Rambaut y Drummond, 2008). La delimitación de las especies con el modelo GMYC se llevó a cabo utilizando el paquete SPLITS diseñado para el programa R (de <http://r-forge.r-project.org/projects/divisiones/>).

3. RESULTADOS

3.1 Diversidad de géneros de la subfamilia Doryctinae

En total se revisaron 777 ejemplares recolectados en 17 localidades diferentes durante las cinco salidas a la Estación Biológica de Chamela, UNAM. El mes donde se colectó la mayor cantidad de individuos fue en febrero con 220, seguido de junio con 215, septiembre con 149, noviembre con 102 y marzo fue el que representó menor cantidad con 91 ejemplares. El número de individuos de la subfamilia Doryctinae recolectados en cada salida se representa en la Figura 13.

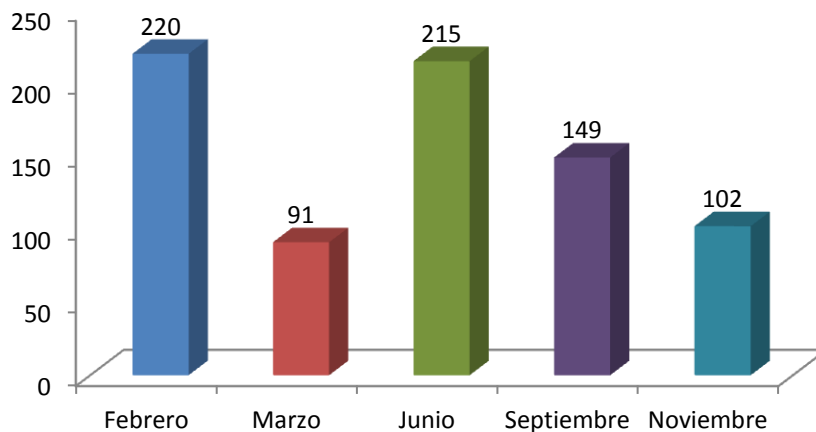


Figura 13. Relación de los ejemplares recolectados en cada mes de recolecta.

Una vez identificados, se registraron un total de 25 géneros pertenecientes a la subfamilia Doryctinae. Diecinueve ejemplares no pudieron ser identificados a nivel de género con las claves taxonómicas y posiblemente se traten de nuevos taxones. Los géneros con representantes recolectados en todas las salidas fueron *Heterospilus*, *Allorhogas*, *Neoheterospilus*, *Rhaconotus* además algunos géneros que no pudieron ser identificados. *Callihormius*, *Glyptocolastes*, *Notiospathius*, *Ecphyllus* y *Hansonorum* se recolectaron en todas las salidas excepto marzo. *Coiba* se encontró en la salida de noviembre, febrero y junio. Por otra parte, especímenes asignados a los siguientes nueve géneros solo se recolectaron en el mes de junio: *Panama*, *Odontobracon*, *Janzenia*, *Psenobolus*, *Ptesimogaster*, *Whitfieldiellus*, *Iare*, *Heterospathius* y *Leluthia*. Los géneros *Hecabolus*, *Vanderentiellus* y *Caenophanes* fueron recolectados únicamente recolectados en el mes de febrero. El género *Curtisella* se recolectó en el mes de febrero y septiembre; *Spathius* en el mes de septiembre y noviembre y *Masonius* se recolectó en el mes de junio y noviembre. La relación de todos los géneros y los meses en los que fueron colectados se pueden observar en la Figura 14.

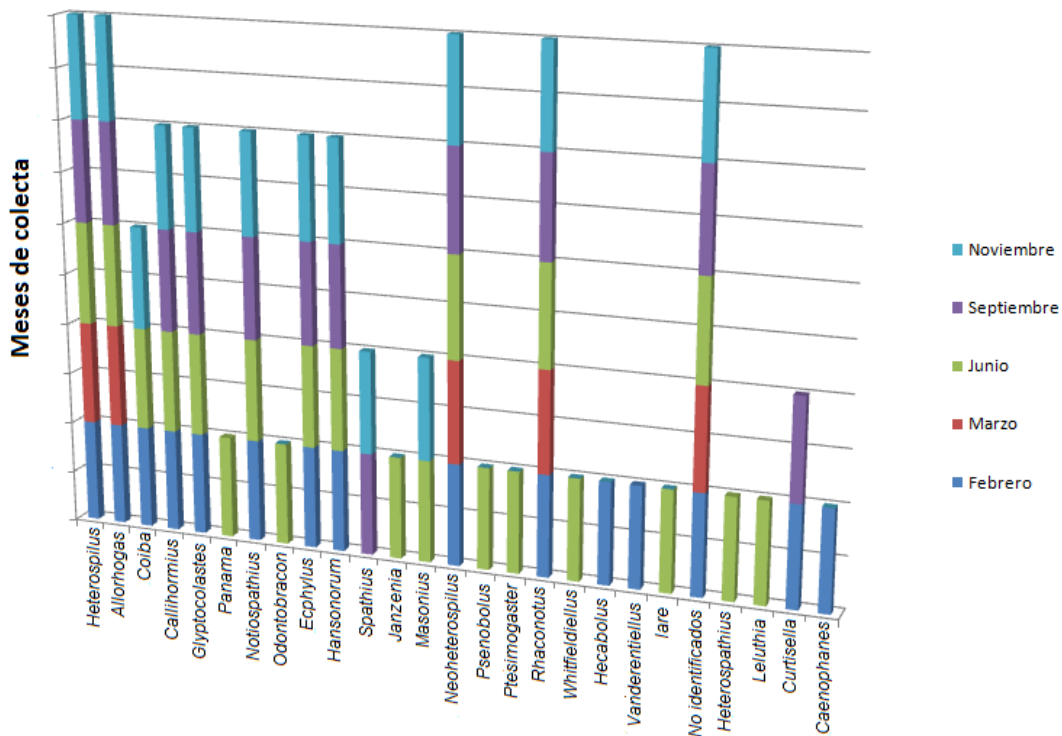


Figura 14. Representación gráfica de los géneros recolectados en los meses de Junio, Septiembre y Noviembre de 2009; Febrero y Marzo de 2010 en la Estación Biológica de Chamela-Cuixmala.

3.2 Eficiencia de las técnicas de recolecta.

De las 4 técnicas de recolecta empleadas, la red entomológica fue la que obtuvo un mayor número de ejemplares con 503, representando el 63% del material colectado, seguido por la trampa de luz con 197 ejemplares (25%), los platos amarillos (YPT) con 55 ejemplares (7%), y por último la trampa Malaise con 22 individuos (3%) (Fig. 15).

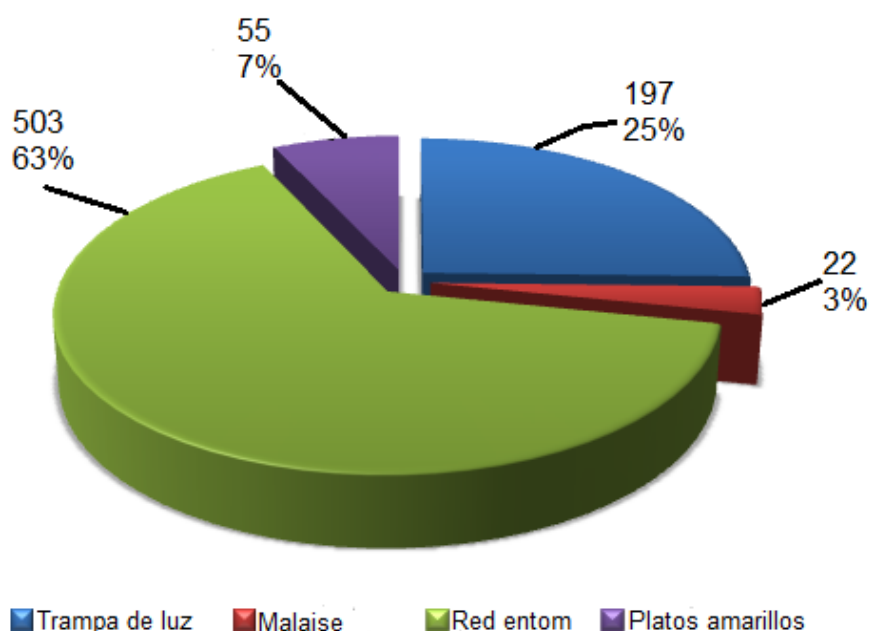


Figura 15. Número y porcentaje de individuos que se recolectaron con las cuatro técnicas empleadas en las cinco salidas al campo realizadas a la Estación Biológica de Chamela, UNAM

Aunque la red entomológica obtuvo el mayor número de ejemplares, en las trampas de luz se obtuvo la mayor cantidad de géneros, donde siete de ellos se recolectaron únicamente con esta técnica: *Panama*, *Odontobracon*, *Janzenia*, *Whitfieldiellus*, *Iare*, *Heterosphatius* y *Leluthia*. Por otra parte, en con la red entomológica se obtuvieron tres géneros que no se recolectaron con otro método: *Hecabolus*, *Vanderentiellus* y *Caenophanes*. Dos géneros, *Psenobolus* y *Ptesimogaster*, fueron recolectados únicamente con platos amarillos

Los géneros *Heterospilus*, *Allorhogas* y los ejemplares de los géneros no identificados se recolectaron con las cuatro técnicas de recolecta.

Glyptocolastes, *Ecphylus*, *Hansonorum* y *Rhaconotus* fueron colectados con redes entomológica, platos amarillos y trampa de luz. Los géneros *Coiba*, *Callihormius*, *Masonius*, *Neoheterospilus* y *Curtisella* se obtuvieron con trampa de luz y red entomológica. Por último, los géneros *Notiospathius* y *Spathius* fueron colectados tanto con redes entomológicas como con platos amarillos (Fig. 16).

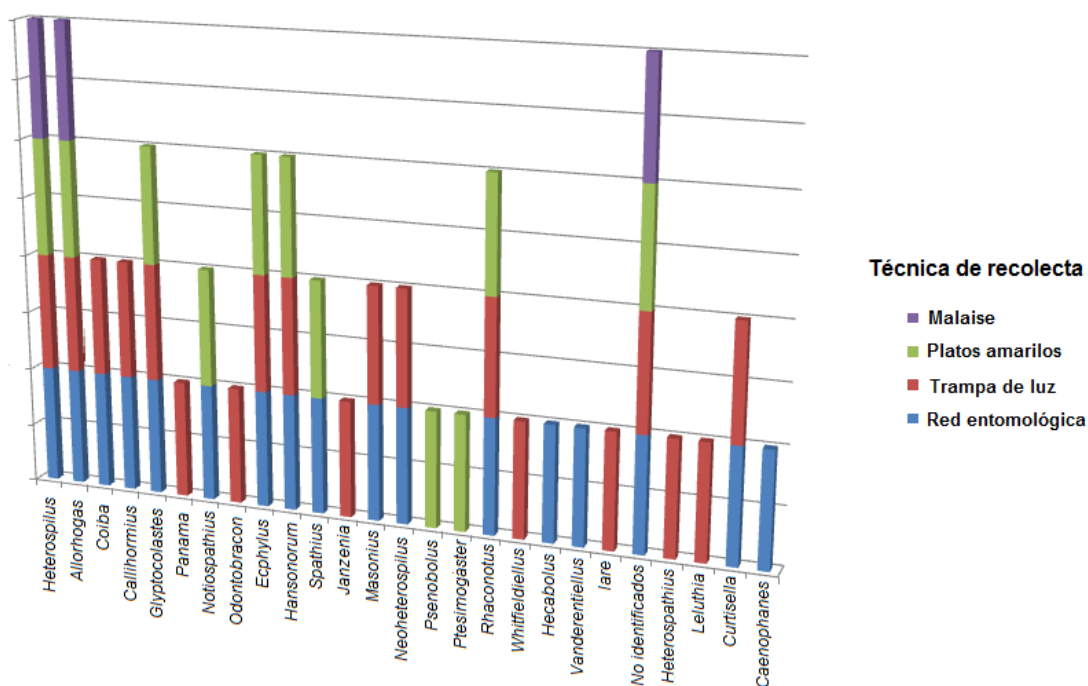


Figura 16. Gráfica con los géneros de la familia Doryctinae encontrados con las cuatro técnicas de recolección empleadas.

3.3 Abundancia de especímenes por género

El cuadro 4 muestra la relación de los especímenes recolectados pertenecientes a los 25 géneros descritos y los que no pudieron ser identificados y sus localidades de procedencia. El género con el mayor número de ejemplares y que estuvo presente en todas las localidades y tipos de trampa fue *Heterospilus* con 535 ejemplares. El número de ejemplares de este género representó el 68.85% del total ejemplares recolectados. El sitio donde se obtuvo el mayor número de ejemplares de *Heterospilus* fue en la localidad camino Chachalaca. Otros géneros también abundantes aunque con un número mucho menor de ejemplares fueron: *Allorhogas*, con 53 especímenes, 6.83%; *Neoheterospilus* con 34 ejemplares, 4.38%; y *Ecphylus*, con 31 ejemplares, 4%. Los géneros que se reportaron a partir de un único ejemplar a

lo largo de todas las salidas fueron: *Caenophanes*, recolectado en la Fundación-Cuixmala-pozza del Jaguar con red entomológica; *Hecabolus*, que se encontró en la estación biológica en el camino Calandria-el mirador con red entomológica; *Heterospathius*, *Leluthia* y *Whitfieldiellus* que se hallaron atrás del laboratorio y recolectados con trampa de luz; *Psenobolus*, recolectado con trampa de luz en el camino Búho; y *Vanderentiellus*, recolectado en el camino Búho-Chachalaca con red entomológica.

LOCALIDADES																			
	Cerca a la estación	Zarco/ Chachalaca	Camino Búho	Camino Chachalaca	Atrás del laboratorio	Camino Calandria	Eje central/ Calandria	Calandria/ Chachalaca	Fundación cuixmala/poza del Jaguar	Fundación Cuixmala/el sendero	Atrás de la cocina	Camino Ardilla	Eje central	Arroyo Calandria	Calandria (el sendero)	Búho/ Chachalaca	Camino Antiguo	Total	
Género																			
Allorhogas		3	1	9	16	4		1	1				2		1		15		53
Caenophanes																1			1
Callihormius					9				1				1	1					12
Coiba				3	3												1		7
Curtisella					1			1											2
No identificados			2	5	3	4				2			1			1	1		19
Ecphylus				1	19	6	2	3											31
Glyptocolastes				2	4				1									1	8
Hansonorum				9	1	1	1	1											13
Hecabolus																1			1
Heterospathius					1														1
Heterospilus	1	21	9	141	77	78	7	30	25	17	6	5	8	30	18	56	6		535
Iare					17														17
Janzenia					2														2
Leluthia					1														1
Masonius				2														1	3
Neoheterospilus		1		10	6	1			1				2	1	4	8			34
Notiospathius						2	1			1		1			1	1			7
Odontobracon					2														2
Panama					2														2
Psenobolus			1																1
Ptesimogaster					1														1
Ptesimogastroides				1															1
Rhaconotus		1		3			1		2								1		8
Spathius						11		1		1									13
Vanderentiellus																	1		1
Whitfieldiellus					1														1
Total general	1	26	13	186	166	107	12	37	31	21	6	9	11	33	26	85	7		777

Cuadro 4 Relación entre en número de individuos de cada género registrado y el sitio de recolecta

3.4 Diversidad de especies identificadas con códigos de barras.

De 777 ejemplares recolectados se pudieron obtener secuencias del código de barras de ADN (Citocromo c oxidasa subunidad I gen ADN_{mt}) para 524 de ellos. Las secuencias obtenidas se editaron, alinearon y analizaron con el programa BEAST, del cual se obtuvo un filograma con longitudes de ramas. El análisis de este árbol con el modelo GMYC discriminó un total de 289 especies pertenecientes a los 25 géneros descritos y 19 individuos sin asignación de género (ver lista de los especímenes para cada una de las especies obtenidas por el método GMYC en Apéndice 1). El género que obtuvo la mayor cantidad de especies fue *Heterospilus* con 177, seguido de *Allorhogas*, del cual se obtuvieron 26 especies; *Ecphyllus* con 21 especies; 11 especies de los géneros que no pudieron ser identificados; 9 especies del género *Callihormius*; *Hansonorum* con 6 especies; los géneros *Glyptocolastes* y *Iare* con 5 especies; *Coiba* y *Rhaconotus* con 4 especies; *Odontobracon*, *Spathius*, *Masonius* y *Curtisella* con 2 especies; y *Panama*, *Notiospathius*, *Janzenia*, *Psenobolus*, *Ptesimogaster*, *Whitfieldiellus*, *Hecabolus*, *Vanderentiellus*, *Heterospathius*, *Leluthia* y *Caenophanes* con solo una especie recolectada. En la figura 17 se puede observar el número de especies obtenidas con el uso del código de barras para cada género recolectado. En la tabla 5 se muestra la relación entre el total de ejemplares colectados, el número de total de individuos de los cuales se pudieron obtener las secuencias del gen COI por cada género, y el número total de especies por género obtenidas gracias a este método de identificación de especies.

En los resultados obtenidos se observa que el género *Ptesimogaster* y *Ptesimogasteroides* ambos con un ejemplar recolectado representan el mismo género y no géneros diferentes como se creó; el código de barras confirmó que se trata de la misma especie en ambos géneros.

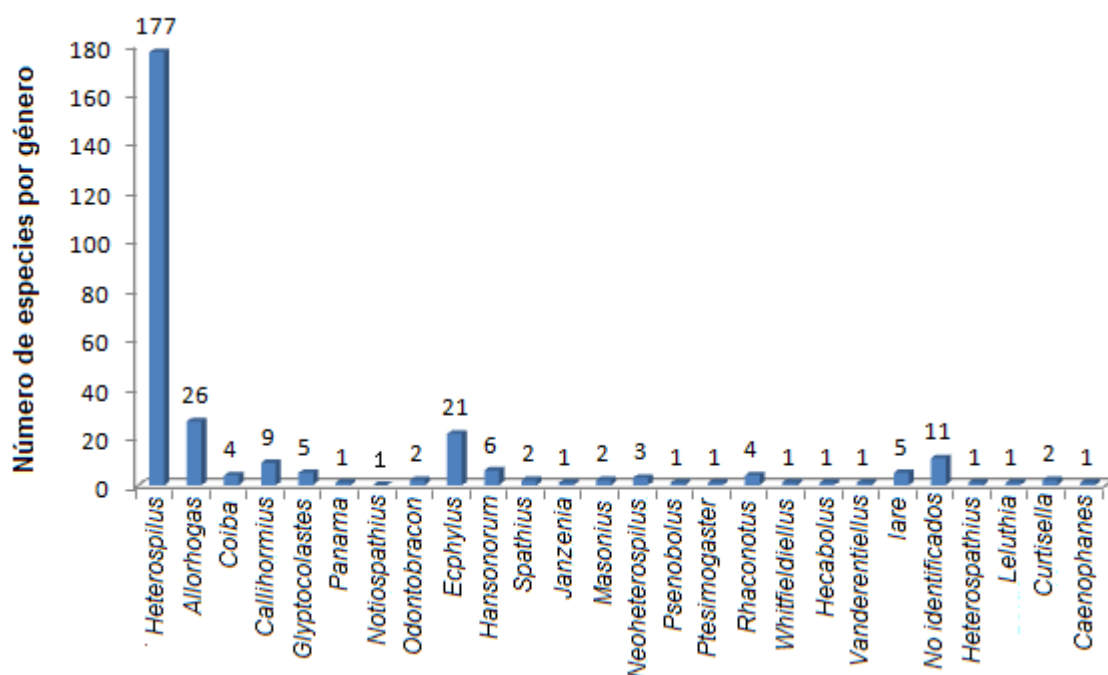


Figura 17. Representación gráfica de los géneros que se identificaron y el número de especies que se obtuvieron a partir de la secuenciación del gen COI (Citocromo oxidasa subunidad I).

GÉNERO	N° DE ESPECIES POR GÉNERO	EJEMPLARES SECUENCIADOS	TOTAL DE EJEMPLARES COLECTADOS
Heterospilus	177	345	535
Allorhogas	26	41	53
Coiba	4	6	7
Callihormius	9	10	12
Glyptocolastes	5	8	8
Panama	1	2	2
Notiospathius	0	0	7
Odontobracon	2	2	2
Ecphylyus	21	28	31
Hansonorum	6	7	13
Spathius	2	11	13
Janzenia	1	1	2
Masonius	2	2	3
Neoheterospilus Chame	3	11	34
Psenobolus	1	1	1
Ptesimogaster	1	2	2
Rhaconotus	4	7	8
Whitfieldiellus	1	1	1
Hecabolus	1	1	1
Vanderentiellus	1	1	1
lare	5	15	17
No identificados	11	14	19
Heterospathius	1	4	1
Leluthia sp.	1	1	1
Curtisella	2	2	2
Caenophanes	1	1	1
Total	289	524	777

Tabla 5. Número de especies obtenidas, ejemplares secuenciados con el gen COI y número de ejemplares colectados en todas las salidas al campo.

3.5 Variación en el número de especies obtenidas en relación con los meses de colecta.

El número de especies encontradas varió notablemente en cada uno de los meses en los que se recolectó, donde febrero y junio fueron los meses con el mayor número de especies recolectadas, marzo y noviembre que representaron el menor número de especies. En la figura 18 se observa el número de especies y las fechas en las que se recolectaron.

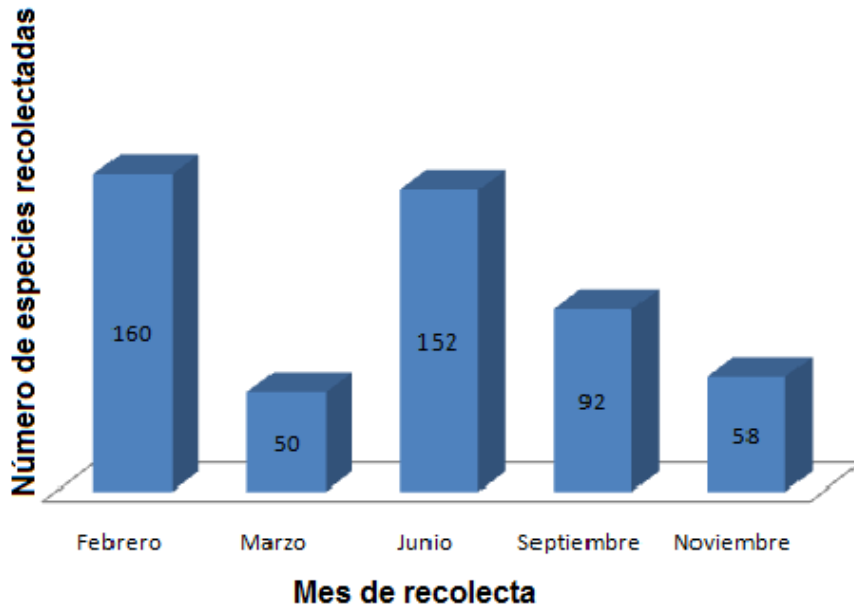


Figura 18. Especies encontradas en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, recolectadas en los meses de junio, septiembre y noviembre de 2009; febrero y marzo de 2010.

3.6 Eficiencia de las técnicas de muestreo para recolectar especies de doryctinos.

De todas las recolectas que se llevaron a cabo se obtuvieron 289 especies discriminadas por el código de barras de ADN de la vida. De cada una de ellas se obtuvieron entre uno y once ejemplares y éstos fueron atrapados en uno o más de los cuatro tipos de técnicas que se emplearon. Con la red entomológica se atrapó un total de 189 especies, que representó el 58% de la recolecta global, seguido de la trampa de luz, en la cual cayeron 101 especies de avispa (31% del total), los platos amarillos con 27 especies recolectadas (8%), y por último la trampa Malaise con 11 especies (3%) (Fig. 19).

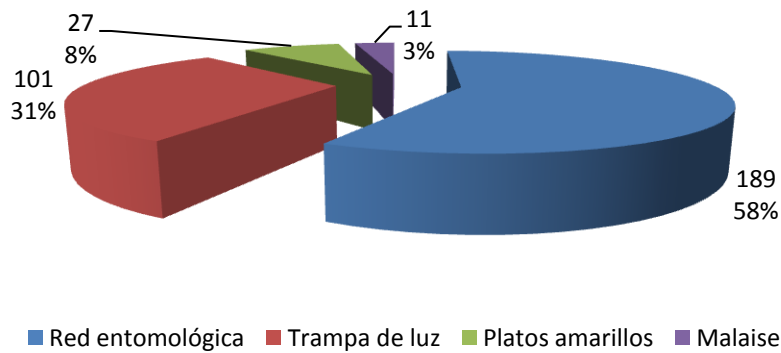


Figura 19. Representación gráfica del número y porcentaje de especies recolectadas con cada técnica en las cinco recolecciones en la estación Biológica de Chamela-Cuixmala.

3.7 Curva de acumulación de especies determinadas con el código de barras de ADN

De los cinco viajes que se realizaron y las especies colectadas se obtuvo una curva de acumulación de especies generada por el sistema de datos del código de barras de la vida (www.barcodinglife.org). En esta curva se muestra que el número de unidades evolutivas discriminadas no ha llegado a una asíntota, por lo que aún un número considerable de especies están en espera de ser descubiertas. Sin embargo esta diversidad descubierta aún tiene que ser analizada por otras herramientas como un análisis morfológico de las especies involucradas o adicionar un marcador nuclear distinto para confirmar los resultados. Fig 20.

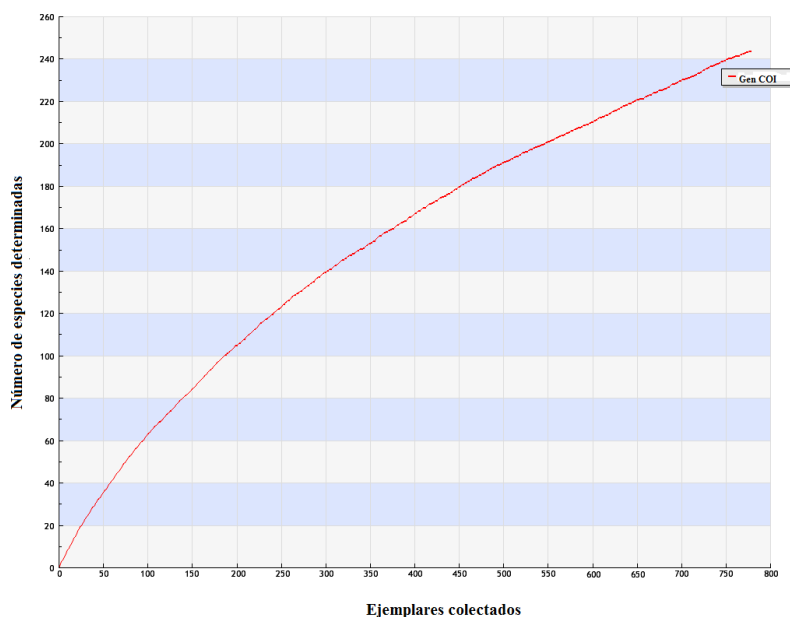


Figura 20. Curva de acumulación de especies obtenido del sistema de datos del código de barras de la vida (www.barcodinglife.org) de las especies de avispas de la subfamilia Doryctinae recolectadas durante las cinco salidas al campo.

4. DISCUSIÓN

4.1 Diversidad de la subfamilia Doryctinae

Las avispas parasitoides juegan un papel muy importante en el control de las poblaciones de otros insectos. En particular las avispas braconíidas pueden ser utilizadas como grupo parámetro para estimar la biodiversidad de ecosistemas natural y perturbados (Delfín y León 1997; Delfín y Burgos 2000; Chay-Hernández et al., 2006). Sin embargo, el conocimiento de la fauna de muchos grupos de braconíidos aún es poco en la región del Neotrópico en relación con la región Neártica. Los pocos trabajos que existen para el Neotrópico se restringen generalmente a dos países, Costa Rica y México (Figuroa-De la Rosa et al., 2003).

Hay varios aspectos que resaltar de las cinco salidas al campo. Aunque febrero fue el mes en el que se recolectaron el mayor número de avispas, en junio se registró un mayor número de géneros. De los géneros recolectados en el mes de junio, de nueve de ellos sólo se recolectó un ejemplar y en una sola trampa. Por otra parte, el mayor número de especies colectadas las observamos en el mes de febrero, con 160, y junio con 152, aunque para febrero la mayoría de estas especies pertenecen a *Heterospilus*. La razón por la que pudo haberse encontrado una mayor diversidad de géneros en junio y una gran diversidad de especies para febrero en general se debe muy probablemente a la posible presencia de larvas hospederas de estos taxones en esos periodos del año. Cabe destacar que es en junio cuando comienzan las lluvias y con ello, los primeros brotes de plantas y muchas especies insectos herbívoros que se alimentan de ellas (Filip et al., 1995). Debido a que muchas de las especies de avispas parasitoides se especializan en atacar a una o pocas especies de hospederos (p. ej. Smith et al., 2008), es durante el comienzo de la época de lluvias, cuando existe mayor cantidad y diversidad de especies de insectos (larvas) herbívoros, por lo que la cantidad de ejemplares y diversidad de géneros en muchos grupos de avispas parasitoides se dispara.

Las especies del género *Heterospilus* se registraron todo el año en las recolectas, siendo por lo tanto el género que presentó el mayor número de especies (177). Esta gran diversidad de especies asignadas a *Heterospilus*

probablemente se deba a que es un grupo polífago, ya que sus especies se han registrado como ectoparásitas de larvas de varios grupos de insectos, tales como Lepidóptera, Coleoptera, Díptera e Hymenoptera, y en varias épocas del año (Belokobylskij, 1992).

4.2 Taxones recolectados con las técnicas de muestreo

En el tipo de trampa en donde se recolectó el mayor número de avispas fue en las redes entomológicas, con 503 ejemplares, seguido de la trampa de luz, con 197. En este último tipo de trampa se recolectó el mayor número de géneros (19 géneros), de los cuales siete fueron exclusivos para esta trampa. Las trampas menos eficientes y donde se recolectaron el menor número de ejemplares, géneros y especies, fueron la trampa Malaise y los platos amarillos. Esto sugiere sin duda sugiere que el tipo de actividad que tienen las especies de doryctinos influye de manera directa en las recolectas. Se sabe que los doryctinos pueden ser más fácilmente encontrados cerca de la presencia de troncos y madera en descomposición, que es los coleópteros xilófagos se encuentran (Belokobylskij, 2008). Las recolectas con las redes entomológicas por lo tanto se enfocaron cerca de troncos tirados, lo cual probablemente originó que estas trampas fueran las que tuvieran mayor éxito en la obtención de ejemplares y especies de doryctinos. Por otra parte, resulta interesante que las trampas de luz hayan obtenido la mayor diversidad de géneros. A la fecha se desconoce la biología de gran parte de las especies de doryctinos, y esta misma situación ocurre con la mayor parte de los géneros recolectados únicamente con trampas de luz. Las especies de avispas parasitoides recolectadas con trampas de luz suelen ser nocturnas y atacar principalmente larvas de lepidópteros (p. ej. Rogadinae; Zaldívar-Riverón et al., 2008). Futuros estudios permitirán establecer las asociaciones parasitoide-hospedero dentro de este grupo de braconidos.

4.3 Importancia del uso del código en Doryctinae.

Debido a que se estima que la diversidad de braconidos y en particular de doryctinos es considerablemente mayor a la descrita hasta la fecha (Dolphin y Quicke, 2002; Jones et al., 2009), el esfuerzo de trabajo sería casi imposible

para tratar de describir todas estas especies únicamente con la de la taxonomía tradicional, esto es, utilizando solo caracteres morfológicos. Actualmente, el uso de las herramientas moleculares y en especial del código de barras de la vida está permitiendo identificar especies en un periodo de tiempo mucho más corto que si solo se utilizara la taxonomía tradicional. Esta herramienta también permite identificar especies cuando estas no se encuentran en su forma adulta (larvas) o cuando las especies son crípticas, esto es, morfológicamente indistinguibles, o morfológicamente muy conservadas y que por lo tanto con la descripción morfológica sería casi imposible llevar a cabo la identificación (Sheffield et al. 2009, Hebert et al., 2003). Este problema se encontró en este estudio con el género *Heterospilus*, en el cual muchas de sus especies son morfológicamente muy similares, pero cuando se analizó la información del código de barras para los 535 ejemplares obtenidos el resultado arrojó una oculta diversidad extraordinaria (177 especies). Estudios posteriores comparando la diversidad encontrada con la morfología de los taxones involucrados permitirá definir con precisión el número de unidades evolutivas dentro de este megadiverso género.

Las ventajas que tiene el uso de código de barras para estudios de diversidad son enormes, porque este método permite clasificar una gran cantidad de especies en un espacio de tiempo muy corto a diferencia de la taxonomía tradicional, en la que tomaría mucho tiempo y esfuerzo clasificar la misma cantidad. En grupos megadiversos como es el caso de los Himenópteros (Hanson y Gauld 2006), el empleo de esta herramienta ha permitido descubrir y describir un gran número de especies en los últimos años. El presente estudio además confirmó que dos formas que habían originalmente sido descritas como géneros diferentes, *Ptesimogaster* y *Ptesimogastroides*, no solo están muy cercanamente relacionadas y por lo tanto representan un solo género, sino también comparten el mismo código de barras y por lo tanto representan una misma especie. Los estudios con esta herramienta molecular también pueden detectar si se ha alcanzado o no a recolectar toda la diversidad presente de un grupo en un área de estudio determinada mediante el empleo de una curva de acumulación de especies, como fue el caso de este trabajo, en donde se observó que no se ha completado el inventario de las especies de Doryctinae en la región de Chamela.

Por último, es importante recalcar que el código de barras del ADN no pretende sustituir la taxonomía tradicional sino solo acelerar el proceso de identificación de especímenes, especialmente en estudios de conservación de la biodiversidad. un ejemplo de ello es el estudio de Smith (2005) en Madagascar con una de las familias más diversas de Hymenoptera, la familia Formicidae. En este trabajo se mostró la importancia que tiene la descripción de especies en un lugar donde la pérdida de la biodiversidad va en aumento. El autor agrega que no es posible solo utilizar el código de barras de ADN para describir especies, ya que la determinación de especies podría ser difusa. La combinación de esta herramienta con un análisis de otros genes, los caracteres morfológicos y los estudios de comportamiento podrían complementarse para obtener un mejor resultado.

Otro uso que se le ha dado a esta herramienta se muestra en un trabajo subsecuente de Smith *et al.* (2006), donde se implementa el uso del código de barras para discriminar 17 morfoespecies de moscas del género *Belvosia*, donde se sospechaba que había especies crípticas. El resultado de este trabajo arrojó un total de 32 especies. También se llegó a la conclusión de que además de tener nuevas especies que no podían haber sido identificadas de la manera tradicional, éstas especies de moscas tienen hospederos específicos. Smith *et al.* (2005) concluyen el artículo el mencionando que la herramienta del código de barras ayuda a la identificación de especies aún en estados inmaduros, por lo que no se tiene que esperar a que eclosionen los adultos para ser identificados.

En regiones donde se tiene un alto número de especies y muchas de ellas endémicas, como lo es en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, el código de barras puede acelerar enormemente el proceso de descripción de especies. Además, con esta herramienta se pueden obtener datos sobre la biología de las especies, como por ejemplo sus asociaciones con hospedero y sus dietas (p. ej. Jurado et al., 2009; Rougerie et al., 2010). A la fecha, la región de Chamela no cuenta con un registro de las especies de ningún grupo de avispas parasitoides y se tiene un conocimiento muy incompleto acerca de la biología de estos organismos. El empleo de código de barras de ADN permitiría por lo tanto obtener datos no solo de los parasitoides, sino en un futuro también sobre su biología y los huéspedes que parasitan.

5. CONCLUSIONES

- Se revisaron un total de 777 ejemplares de avispas, recolectados en 17 localidades ubicadas dentro de la Estación Biológica de la UNAM, en la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco.
- Se identificaron los siguientes 26 géneros de avispas pertenecientes a la subfamilia Doryctinae: *Heterospilus*, *Allorhogas*, *Coiba*, *Callihormius*, *Glyptocolastes*, *Panama*, *Notiospathius*, *Odontobracon*, *Ecphylus*, *Hansonorum*, *Spathius*, *Janzenia*, *Masonius*, *Neoheterospilus*, *Psenobolus*, *Ptesimogaster*, *Rhaconotus*, *Whitfieldiellus*, *Hecabolus*, *Vanderentiellus*, *lare*, *Heterospathius*, *Leluthia*, *Curtisella* y *Caenophanes*. Además, 19 ejemplares no pudieron ser clasificados y posiblemente representen nuevos taxones.
- De los 777 ejemplares recolectados, 524 fueron secuenciados para el Código de barras del ADN (658 pb del gen mitocondrial COI), discriminándose un total de 289 especies pertenecientes a los 26 géneros identificados. El género *Heterospilus* fue el que obtuvo un mayor número tanto de ejemplares (535) y de especies (177).
- El mes donde se obtuvo el mayor número de ejemplares fue febrero con 220, seguido de junio con 215 ejemplares, septiembre 149, noviembre con 102 y marzo con 91 ejemplares. En febrero se recolectaron 15 géneros y 160 especies; en junio se capturaron 21 géneros y 152 especies. Además en junio se obtuvieron nueve géneros que no pudieron ser recolectados en otra salida de campo, estos fueron: *Leluthia* (1sp), *Panama* (1sp), *Odontobracon* (2spp), *Janzenia* (1sp), *Psenobolus* (1sp), *Ptesimogaster* (1sp), *Whitfieldiellus* (1sp), *lare* (5spp) y *Heterospathius* (1 sp).
- Las técnicas de colecta más eficientes para colectar doryctinos fueron la red entomológica con 503 ejemplares y la trampa de luz con 197 ejemplares.
- La trampa de luz tuvo una mayor diversidad en cuanto al número de géneros colectados y siete de estos géneros fueron particulares a esta trampa (*Panama*, *Notiospathius*, *Odontobracon*, *Janzenia*, *Whithfieldiellus*, *lare* y *Heterospathius*). La red entomológica fue en la que se encontró el mayor número de especies (189 spp), en la trampa de luz se recolectaron

101 especies, en los platos amarillos se encontraron 27 especies y en la trampa Malaise 11 especies.

- Los géneros que se registraron en este trabajo y que no se habían mencionado otros trabajos en México son: *Coiba*, *Panama*, *Hansonorum*, *Masonius*, *Neoheterospilus*, *Psenobolus*, *Ptesimogaster*, *Vanderentiellus*, *lare*, *Heterospathius* y *Caenophanes*. Además, la recolecta de un espécimen perteneciente a *Caenophanes* representa el primer registro del género para el continente americano.
- La curva de acumulación de especies para las secuencias generadas indica que todavía faltan más especies de doryctinos por ser recolectadas en la región de Chamela.
- El código de barras es una herramienta muy eficaz porque además de identificar especies en un corto plazo también ayudó a corroborar dudas de identificación que se tienen sobre algunos géneros, como fue el caso de *Ptesimogaster* y *Ptesimogasteroides* que además de ser el mismo género se trata de la misma especie.
- El código de barras de ADN representa una alternativa viable para identificar especies en la región de Chamela porque sabemos que hay una alta diversidad de especies de Doryctinos pero que aún siguen esperando por ser descubiertos, como lo observamos en la curva de acumulación de especies.
- La región de Chamela es un lugar que cuenta con una gran diversidad de organismos y hoy en día las herramientas con las que contamos como lo es el código de barras, ayudará a acelerar la identificación de esas especies y así poder tomar decisiones acerca de las zonas que deben ser conservadas y no solo en esa región sino en todo México.

6. REFERENCIAS

Achterberg C. van 1993. Illustrated key to the subfamilies of the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) is given. Zoologische Verhandlungen 283:1-189.

Askew R., Shaw M. R. 1986. Parasitoids communities: their size, structure and development. En Waage J. y Greathead, editores. Insect parasitoids. Academic Press. London UK, pp 225-264.

Austin A., Dangerfield P. 1997. A new species of Jarra Marsh and Austin (Hymenoptera: Braconidae) with comments of other parasitoids associated with the eucalypt Longicorn Phoracantha semipunctata (Coleoptera: Cerambycidae) Australian Journal of Entomology 36: 327-331.

Austin A., Dangerfield P. 1998. Biology of *Mesostoa kerri* (Insecta: Hymenoptera: Braconidae: Mesostoinae), an Endemic Australian Wasp that Causes Stem Galls on *Banksia marginata*. Australian Journal of Botany 46: 559-569.

Belokobylskij Sergey. A. 2002. Two new Oriental genera of Doryctinae (Hymenoptera, Braconidae) from termite nests. Journal of Natural History 36: 8: 953-962.

Belokobylskij Sergey A., Zaldivar-Riverón Alejandro, Quicke, Donald. L. J. 2004. Phylogeny of the genera of the parasitic wasps subfamily Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae) based on morphological evidence. Zoological Journal of the Linnean Society 142: 3: 369-404.

Borror D., White R. 1970. Insects. Houghton Mifflin. pp. 312-320.

Bullock S. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of México. Archives for Meteorology. Geophysics and Bioclimatology 36: 297-316.

Camou A. 2001. Análisis de patrones microclimáticos en una selva baja caducifolia de Chamela, Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Ceballos G., Szekely A., Rodríguez A., Noguera F. 1999. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAP México, 141 pp.

Cushman R. A. 1923. A new subfamily of the Braconidae (Hymenoptera) from termite nests. Proceedings of the Entomological Society of Washington 25: 54-55.

Delfín G. H., Burgos D. 2000. Los braconidos (Hymenoptera: Braconidae) como grupo parámetro de biodiversidad en las selvas deciduas del trópico: una discusión acerca de su posible uso. Acta Zoológica Mexicana 79:43-56.

Delfín G. H., León F. A. 1997. Géneros de Braconidae (Hymenoptera) en Yucatán. Algunos elementos para el planteamiento de patrones de riqueza. *Acta Zoológica Mexicana* 70: 65-77.

Delfín G. H., Chay H. D., González M. A., Puch H. L., Suárez C. C. 2002. New Records of Braconidae (Hymenoptera) Subfamilies and Genera from Mexico and State of Yucatan. *Transactions of the American Entomological Society* 128: 99-108.

Diario Oficial de la Federación 1993. Decreto por el que se declara área natural protegida con el caracter de Reserva de la Biósfera, la region conocida como Chamela-Cuixmala, ubicada en el municipio de la huerta, Jalisco. Jueves 30 de Diciembre de 1993. México, D.F. Tomo CDLXXXIII.

Dolphin Konrad, Quicke Donald. L. J. 2001. Estimating the global species-richness of incompletely described taxa: an example using parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 73: 279-286.

Droege S. 2006. Tips on How to Use Bee Bowls to Collect Bees. <http://online.sfsu.edu/beeplot/pdfs/>.

Drummond Alexei J., Rambaut Andrew. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees *BMC Evolutionary Biology* 7:214.

Fazekas Aron J., Burgess Kevin S., Kesanakurti Prasad R., Graham Sean W., Newmaster Steven G., Husband Brian C., Percy Diana M. Hajibabaei Mehrdad., Barrett Spencer H. 2008. Multiple Multilocus DNA Barcodes from the Plastid Genome Discriminate Plant Species Equally Well. *PLoS ONE* 3:7e2802.

Filip Virginia, Dirzo Rodolfo, Maass Jose, Sarukhán José. 1995. Within-and Among-year Variation in the Levels of Herbivory on the Foliage of Trees from a Mexican Tropical Deciduous Forest *Biotropica* 27:1: 78-86.

Fischer M. 1987. Hymenoptera Braconidae Opiinae III athiopische, orientalische, australische und ozeanische Region. *Das Tierreich* 105:1-734.

Fontaneto D., Herniou E. A., Boschetti C., Caprioli M., Melone G., Ricci C., Barraclough T.G. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biology* 5:914-921.

Foster Peter G. 2004. Modeling compositional heterogeneity. *Systematic Biology* 53:3:485-495.

Gauld Ian D. y Bolton Barry. 1988. The hymenoptera. Oxford University Press, 1-332 pp.

García-Oliva F., Ezcurra E., Galicia L. 1991. Pattern of rainfall distribution in the Central Pacific coast of México. *Geo-grafiska Annaler* 73:179-186.

García E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

Grisell Eric E. 1999. An annotated catalog of world Megastigminae (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae). *Contributions of the American Entomological Institute* 32: 1-90.

Godfray H. C. J. y Chan S. M. 1993. Host-feeding strategies of parasitoid wasp. *Evolutionary Ecology* 7: 593-604.

Gullan, P. J. y Cranston P. S. 2005. *The Insects. An outline of entomology.* Oxford, Blackwell Publishing, 1-510pp.

Hawkins, B. A., Hochberg M. E. 1994. The implications of population dynamics theory to parasitoids diversity and biological control. En Hawkins B. A. y Sheehan W. *Parasitoids community ecology.* Oxford University Press, UK, pp 451-471.

Hanson Paul y Gauld Ian. 2006. Hymenoptera de la Región Neotropical. *The American Entomological Institute* 77: 994 pp.

Hebert Paul D. N., Cywinska Alina, Ball Shelley. L. y deWaard Jeremy. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society London B Biological Science* 270:313-321.

Hebert Paul D. N., Penton Erin H., Burns John M., Janzen Daniel H. y Hallwachs Winnie 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 14812-14817.

Infante Francisco, Hanson Paul y Wharton Robert 1995. Phytophagy in the Genus *Monitoriella* (Hymenoptera: Braconidae) with Description of New Species. *Annals of Entomological Society of America* 88: 406-415.

Owen Jones R., Purvis Andy, Baumgart Eligiusz y Quicke Donald L. J. 2009 Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *The Royal Entomological Society, Insect Conservation and Diversity* 2:204-212.

Jurado Rivera José, Vogler Alfred P., Reid Chris A., Petitpierre Eduard y Zurita Gómez Jesús 2009. DNA barcoding insect-host plant associations. *Proceedings of the Royal Society London B Biological Science* 276: 639-648.

Kress John W., Wurdack Kenneth J., Zimmer Elizabeth A., Weigh Lee A. y Janzen Daniel H. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 8369-8374.

LaSalle John y Gauld David Ian 1993. *Hymenoptera and Biodiversity*. C.A.B. International Wallingford, 1-348 pp.

Lott E. S. 2002. Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela-Cuixmala. En: Noguera FA, Vega R JH, García A AN, Quezada A M (Eds.) *Historia natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM, México D. F., pp 99-136.

Marsh Paul M. 1997. Doryctinae. En: Wharton R. A., Marsh P. M., Sharkey M. J., (eds). *Manual of the New World genera of the Family Braconidae (Hymenoptera)*. Special Pub. Int. Soc. Hymenopt 1-439pp..

Marsh Paul M. 2002. The Doryctinae of Costa Rica (excluding the genus *Heterospilus*). *Memoirs of the American Entomological Institute* 70:1-319.

Martínez-González Alejandro 2008. Himenópteros parasitoides de Santa María Yavesía, Sierra Norte de Oaxaca. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR. Oaxaca, 101 pp.

Monaghan Michael T., Wild Ruth, Elliot Miranda, Fujisawa Tomochika, Balke Michael, Inward Daegan J. G., Lees David C., Ranaivosolo Ravo Eggleton Paul, Barraclough Timothy G. y Vogler Alfried. 2009. Aceerad species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delination. *Society of systematic Biologist* 58: 298-311.

Mackauer M. 1968. Aphidiidae. En Ferrière Ch. y J. van der Vecht edit. *Hymenopterorum Catalogus*, novena edición, pp. 1-103.

Morales López. M. 2007. Bracónidos (Hymenoptera) presentes en Pluma Hidalgo, Oaxaca. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR. Oaxaca, 134 pp.

Packer L., Gibbs J., Sheffield C., Hanner R. 2009. DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources* 9:42-50.

Pons Joan, Barraclough Timothy G., Gomez-Zurita Jesus, Cardoso Anabela, Duran Daniel P., Hazell Steaphan, Kamoun Ssophien, Sumlin William D. y Vogler Alfried P. 2006. Sequence based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55: 595-609.

Posada D. 2004. Collapse: describing haplotypes from sequence alignments. Vigo (Spain): University of Vigo. Available from <http://darwin.uvigo.es/software/collapse.html>

Quicke Donald L. J. y C. Achterberg van. 1990. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) Zoologische Verhandelingen 258: 1-258.

Quicke Donald L. J. y Achterberg van. 1992. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae: a reassessment assessed. Cladistics 8: 237-264.

Quicke Donald L. J., Ficken L. y Fitton M. G. 1992. New diagnostic ovipositor characters for doryctinae wasps (Hymenoptera, Braconidae). Journal of Natural History 26:1035-1046.

Quicke Donald L. J. 1997. Parasitic wasps. Ed. Chapman and Hall, London UK, 470pp.

Rougerie Rodolphe, Smith Alex M., Fernández-Triana José, López-Vaamonde Carlos, Ratnasingham Sujeevan y Hebert Paul D. N. 2011. Molecular analysis of parasitoids linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host. Molecular ecology 20: 179-186.

Rzedowski Jerzy 1978. Vegetación de México. Limusa, México, D.F., 432 pp.

Saavedra-Aguilar Mario 2009. Géneros y especies de avispa de la familia Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) del estado de Hidalgo. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. De México, 78 pp.

Sánchez García José, Romero Nápoles Jesús, Ramírez Alarcón Samuel, Anaya Rosales Socorro. 1998. Géneros de Braconidae del estado de Guanajuato (Insecta: Hymenoptera). Instituto de Ecología A.C. Xalapa, México. Acta Zoológica Mexicana 74: 59-137.

Savolainen Vicent, Cowan Robyn S., Vogler Alfred P., Roderick George K. y Lane Richard. 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. Philosophical Transactions of the Royal Society B biological sciences 360: 1805-1811.

Schoenly Kenneth. 1990. The depredators of insect. Ecological Entomology 15: 333-345.

Sharkey Michael J., Wahl David B. 1993. Superfamily Ichneumonoidea en Hymenoptera of world: En Hubert John T. y Goulet Henri, editores. An identification guide to families. Agriculture Canada, pp 358-449.

Sharkey Michael J. 1998. Clave para las subfamilias del nuevo mundo de la familia Braconidae. En: Wharton RA, Marsh PM, Sharkey MJ, eds. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera). ISH Special Publication 1. Washington: International Society of Hymenopterists, pp 41-67.

Sharkey Michael J., Wharton Robert A. 1998. Morphology and terminology. En: Wharton Robert A., Marsh Paul M., Sharkey Michael J., (eds.) Manual of

the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera). ISH Special Publication 1. Washington: International Society of Hymenopterists, pp19-37.

Shaw Scott Richard. 1995. Family Braconidae. En: Ian David Gauld y Hanson Paul (eds.). Hymenoptera of Costa Rica. Editorial Oxford University Press, Oxford, pp 431-463.

Sharkey Michael J. 2007. Phylogeny and classification of Hymenoptera. Zootaxa 1668: 521-548.

Sheffield Cory S., Hebert Paul D. N., Kevan Peter y Packer Laurence 2009 DNA barcoding a regional bee (Hymenoptera: Apoidea) fauna and its potential for ecological studies. Molecular Ecology Resources 9:196-207.

Shenefelt, Roy D. y Marsh Paul M. 1976. Braconidae 9, Doryctinae. En 'Hymenopterum catalogus, nova edito. Edit. J. van der Vecht and R. D. Shenefelt. 13: 1263-1424.

Smith Alex M., Fisher Brian L. y Hebert Paul D. N. 2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. Phil trans R. Soc. B 360:1825-1834.

Smith Alex M., Woodley Norman E., Janzen Daniel H., Hallwachs Winnie y Hebert Paul D. N. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies. PNAS 103:3657-3662.

Smith Alex M., Rodríguez Josephine J., Whitfield James B., Deans Andrew R., Janzen Daniel H., Hallwachs Winnie y Hebert Paul D. N. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasp exposed by interactive integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. PNAS, USA 105:12359-12364.

Trejo Irma y Dirzo Rodolfo. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. Biological Conservation 94:133-142.

Wharton Robert A., Marsh Paul y Sharkey Michael J. 1998. Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo. The International Society of Hymenopterists. Washington DC, 447 pp.

Wharton Robert A. y Hanson P. E. 2005. Gall wasps in the family Braconidae (Hymenoptera). In 'Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods'. (Eds A. Raman, W. Carl Schaefer y Toni M. Withers), pp 495-505.

Zaldivar-Riverón Alejandro, Mori Miharuru y Quicke Donald L. J. 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 Alejandro, Belokobylskij Sergey A., León-Regagnon Virginia, Martínez José J., Briceño Rosa G. y Quicke Donald L. J. 2007. A single origin of gall association in a group of parasitic wasps with disparate morphologies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44:981-992.

Zaldivar-Riverón Alejandro, Belokobylskij Sergey A., León-Regagnon Virginia, Briceño Rosa G. y Quicke Donald L. J. 2008. Molecular phylogeny and historical biogeography of the cosmopolitan parasitic wasp subfamily Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae). *Invertebrate Systematics* 22:345-363.

7. APENDICE 1

Lista de las especies de doryctinos discriminadas con el método GMYC. El árbol ultramétrico con las especies discriminadas se encuentra anexo en un CD:

1	ASDOR201	<i>Heterospilus sp.</i>
2	ASDOR385, 754, 570	<i>Heterospilus sp.</i>
3	ASDOR344	<i>Heterospilus sp.</i>
4	ASDOR541	<i>Heterospilus sp.</i>
5	ASDOR117	<i>Heterospilus sp.</i>
6	ASDOR483	<i>Heterospilus sp.</i>
7	ASDOR118	<i>Heterospilus sp.</i>
8	ASDOR154	<i>Heterospilus sp.</i>
9	ASDOR602	<i>Heterospilus sp.</i>
10	ASDOR623	<i>Heterospilus sp.</i>
11	ASDOR569	<i>Heterospilus sp.</i>
12	ASDOR291	<i>Heterospilus sp.</i>
13	ASDOR333	<i>Heterospilus sp.</i>
14	ASDOR388	<i>Heterospilus sp.</i>
15	ASDOR562, 563	<i>Heterospilus sp.</i>
16	ASDOR424	<i>Heterospilus sp.</i>
17	ASDOR250	<i>Heterospilus sp.</i>
18	ASDOR408	<i>Heterospilus sp.</i>
19	ASDOR122	<i>Heterospilus sp.</i>
20	ASDOR594, 600,237,698,092	<i>Heterospilus sp.</i>
21	ASDOR693, 238, 685	<i>Heterospilus sp.</i>
22	ASDOR721, 629, 605	<i>Heterospilus sp.</i>
23	ASDOR536	<i>Heterospilus sp.</i>
24	ASDOR510, 287, 644, 537,684, 699	<i>Heterospilus sp.</i>
25	ASDOR187	<i>Heterospilus sp.</i>
26	ASDOR218	<i>Heterospilus sp.</i>
27	ASDOR301, 507, 269, 341, 266, 300, 508, 219	<i>Heterospilus sp.</i>
28	ASDOR672, 296, 406, 259	<i>Heterospilus sp.</i>
29	ASDOR741	<i>Heterospilus sp.</i>
30	ASDOR547, 542, 496	<i>Heterospilus sp.</i>
31	ASDOR548	<i>Heterospilus sp.</i>
32	ASDOR497	<i>Heterospilus sp.</i>
33	ASDOR756, 419, 136, 052	<i>Heterospatius sp.</i>
34	ASDOR771, 474	<i>Neoheterospilus chamelae</i>
35	ASDOR625, 216, 482, 549, 473, 492, 769	<i>Neoheterospilus chamelae</i>
36	ASDOR601, 772	<i>Neoheterospilus chamelae</i>
37	ASDOR706, 407, 668, 451	<i>Heterospilus sp.</i>
38	ASDOR703, 671, 249, 410	<i>Heterospilus sp.</i>
39	ASDOR251, 203	<i>Heterospilus sp.</i>
40	ASDOR716, 738, 252, 674	<i>Heterospilus sp.</i>

41	ASDOR235, 630, 229, 719, 337, 728	<i>Heterospilus sp.</i>
42	ASDOR174	<i>Heterospilus sp.</i>
43	ASDOR130, 383, 390	<i>Heterospilus sp.</i>
44	ASDOR109	<i>Heterospilus sp.</i>
45	ASDOR199	<i>Heterospilus sp.</i>
46	ASDOR115	<i>Heterospilus sp.</i>
47	ASDOR620	<i>Heterospilus sp.</i>
48	ASDOR111, 689	<i>Heterospilus sp.</i>
49	ASDOR294	<i>Heterospilus sp.</i>
50	ASDOR711	<i>Heterospilus sp.</i>
51	ASDOR646	<i>Heterospilus sp.</i>
52	ASDOR312, 648, 545, 676	<i>Heterospilus sp.</i>
53	ASDOR489, 701, 616	<i>Heterospilus sp.</i>
54	ASDOR734, 110	<i>Heterospilus sp.</i>
55	ASDOR149, 755	<i>Heterospilus sp.</i>
56	ASDOR487, 480	<i>Heterospilus sp.</i>
57	ASDOR532, 135, 395, 283	<i>Heterospilus sp.</i>
58	ASDOR715	<i>Heterospilus sp.</i>
59	ASDOR226, 546, 194	<i>Heterospilus sp.</i>
60	ASDOR485, 279, 502, 512, 263, 271, 707	<i>Heterospilus sp.</i>
61	ASDOR243, 511, 491, 666, 528	<i>Heterospilus sp.</i>
62	ASDOR653, 299, 114, 506, 374	<i>Heterospilus sp.</i>
63	ASDOR690, 499	<i>Heterospilus sp.</i>
64	ASDOR688	<i>Heterospilus sp.</i>
65	ASDOR322	<i>Heterospilus sp.</i>
66	ASDOR141	<i>Heterospilus sp.</i>
67	ASDOR626	<i>Heterospilus sp.</i>
68	ASDOR612	<i>Heterospilus sp.</i>
69	ASDOR403, 153, 215	<i>Heterospilus sp.</i>
70	ASDOR628	<i>Heterospilus sp.</i>
71	ASDOR588	<i>Heterospilus sp.</i>
72	ASDOR634	<i>Heterospilus sp.</i>
73	ASDOR183, 189, 556	<i>Heterospilus sp.</i>
74	ASDOR072	<i>Heterospilus sp.</i>
75	ASDOR160, 732, 657	<i>Heterospilus sp.</i>
76	ASDOR501	<i>Heterospilus sp.</i>
77	ASDOR714	<i>Heterospilus sp.</i>
78	ASDOR675, 680	<i>Heterospilus sp.</i>
79	ASDOR503	<i>Heterospilus sp.</i>
80	ASDOR593	<i>Heterospilus sp.</i>
81	ASDOR221	<i>Heterospilus sp.</i>
82	ASDOR416	<i>Heterospilus sp.</i>
83	ASDOR167, 090	<i>Heterospilus sp.</i>
84	ASDOR261	<i>Heterospilus sp.</i>
85	ASDOR426	<i>Heterospilus sp.</i>
86	ASDOR273, 427	<i>Heterospilus sp.</i>

87	ASDOR171	<i>Heterospilus sp.</i>
88	ASDOR248	<i>Heterospilus sp.</i>
89	ASDOR622, 529	<i>Heterospilus sp.</i>
90	ASDOR649	<i>Heterospilus sp.</i>
91	ASDOR325	<i>Heterospilus sp.</i>
92	ASDOR234, 209	<i>Heterospilus sp.</i>
93	ASDOR681	<i>Heterospilus sp.</i>
94	ASDOR177, 495, 590, 133, 691, 247, 726, 544	<i>Heterospilus sp.</i>
95	ASDOR753, 678	<i>Heterospilus sp.</i>
96	ASDOR346	<i>Heterospilus sp.</i>
97	ASDOR347, 619	<i>Heterospilus sp.</i>
98	ASDOR186	<i>Heterospilus sp.</i>
99	ASDOR396	<i>Heterospilus sp.</i>
100	ASDOR677, 509, 231, 643	<i>Heterospilus sp.</i>
101	ASDOR637	<i>Heterospilus sp.</i>
102	ASDOR592	<i>Heterospilus sp.</i>
103	ASDOR543, 478	<i>Heterospilus sp.</i>
104	ASDOR197, 124	<i>Heterospilus sp.</i>
105	ASDOR673	<i>Heterospilus sp.</i>
106	ASDOR213	<i>Heterospilus sp.</i>
107	ASDOR636, 520, 611, 476	<i>Heterospilus sp.</i>
108	ASDOR710	<i>Heterospilus sp.</i>
109	ASDOR313	<i>Heterospilus sp.</i>
110	ASDOR304	<i>Heterospilus sp.</i>
111	ASDOR190	<i>Heterospilus sp.</i>
112	ASDOR224	<i>Heterospilus sp.</i>
113	ASDOR558, 561	<i>Heterospilus sp.</i>
114	ASDOR087	<i>Heterospilus sp.</i>
115	ASDOR085, 162, 086	<i>Heterospilus sp.</i>
116	ASDOR206	<i>Heterospilus sp.</i>
117	ASDOR317, 223, 228, 161, 280, 214, 126, 164	<i>Heterospilus sp.</i>
118	ASDOR170	<i>Heterospilus sp.</i>
119	ASDOR439	<i>Heterospilus sp.</i>
120	ASDOR442, 211, 615	<i>Heterospilus sp.</i>
121	ASDOR246	<i>Heterospilus sp.</i>
122	ASDOR735	<i>Heterospilus sp.</i>
123	ASDOR262	<i>Heterospilus sp.</i>
124	ASDOR241	<i>Heterospilus sp.</i>
125	ASDOR210, 682, 582	<i>Heterospilus sp.</i>
126	ASDOR505, 486, 245, 596, 144, 138, 533, 242, 200, 147, 384	<i>Heterospilus sp.</i>
127	ASDOR606	<i>Heterospilus sp.</i>
128	ASDOR078	<i>Heterospilus sp.</i>
129	ASDOR180	<i>Heterospilus sp.</i>
130	ASDOR314	<i>Heterospilus sp.</i>
131	ASDOR131, 132	<i>Heterospilus sp.</i>
132	ASDOR184, 181	<i>Heterospilus sp.</i>

133	ASDOR227	<i>Heterospilus sp.</i>
134	ASDOR289	<i>Heterospilus sp.</i>
135	ASDOR702	<i>Heterospilus sp.</i>
136	ASDOR587, 743	<i>Heterospilus sp.</i>
137	ASDOR179, 494, 139	<i>Heterospilus sp.</i>
138	ASDOR127	<i>Heterospilus sp.</i>
139	ASDOR094	<i>Heterospilus sp.</i>
140	ASDOR393, 559	<i>Heterospilus sp.</i>
141	ASDOR604	<i>Heterospilus sp.</i>
142	ASDOR402	<i>Heterospilus sp.</i>
143	ASDOR650, 705, 265, 712, 704	<i>Heterospilus sp.</i>
144	ASDOR709	<i>Heterospilus sp.</i>
145	ASDOR584	<i>Heterospilus sp.</i>
146	ASDOR654	<i>Heterospilus sp.</i>
147	ASDOR256, 305, 329	<i>Heterospilus sp.</i>
148	ASDOR207, 568	<i>Heterospilus sp.</i>
149	ASDOR258	<i>Heterospilus sp.</i>
150	ASDOR331	<i>Heterospilus sp.</i>
151	ASDOR420	<i>Heterospilus sp.</i>
152	ASDOR192, 129	<i>Heterospilus sp.</i>
153	ASDOR157	<i>Heterospilus sp.</i>
154	ASDOR182	<i>Heterospilus sp.</i>
155	ASDOR308	<i>Heterospilus sp.</i>
156	ASDOR089	<i>Heterospilus sp.</i>
157	ASDOR339	<i>Heterospilus sp.</i>
158	ASDOR493, 659, 158	<i>Heterospilus sp.</i>
159	ASDOR687, 523, 477, 692, 665	<i>Heterospilus sp.</i>
160	ASDOR173, 667, 670, 664, 120, 168, 695, 490	<i>Heterospilus sp.</i>
161	ASDOR669, 574	<i>Heterospilus sp.</i>
162	ASDOR751	<i>Heterospilus sp.</i>
163	ASDOR272	<i>Heterospilus sp.</i>
164	ASDOR400	<i>Heterospilus sp.</i>
165	ASDOR436, 752	<i>Heterospilus sp.</i>
166	ASDOR152, 422	<i>Heterospilus sp.</i>
167	ASDOR282, 580, 679	<i>Heterospilus sp.</i>
168	ASDOR212	<i>Heterospilus sp.</i>
169	ASDOR521, 524	<i>Heterospilus sp.</i>
170	ASDOR534	<i>Heterospilus sp.</i>
171	ASDOR150	<i>Heterospilus sp.</i>
172	ASDOR700	<i>Heterospilus sp.</i>
173	ASDOR411	<i>Heterospilus sp.</i>
174	ASDOR661, 125	<i>Heterospilus sp.</i>
175	ASDOR185	<i>Heterospilus sp.</i>
176	ASDOR504, 683,264, 156, 578	<i>Heterospilus sp.</i>
177	ASDOR155, 088	<i>Heterospilus sp.</i>
178	ASDOR651	<i>Heterospilus sp.</i>

179	ASDOR292, 319, 208	<i>Heterospilus sp.</i>
180	ASDOR205, 401	<i>Heterospilus sp.</i>
181	ASDOR452	<i>Heterospilus sp.</i>
182	ASDOR609	<i>Hecabolus sp.</i>
183	ASDOR380	<i>Curtisella sp.</i>
184	ASDOR757	<i>Vanderentiellus sp.</i>
185	ASDOR348, 066, 068	<i>Glyptocolastes sp.</i>
186	ASDOR349	<i>Allorhogas sp.</i>
187	ASDOR552	<i>Allorhogas sp.</i>
188	ASDOR006, 005	<i>Coiba sp.</i>
189	ASDOR007, 004	<i>Coiba sp.</i>
190	ASDOR083, 513	<i>Allorhogas sp.</i>
191	ASDOR460	<i>Doryctinae</i>
192	ASDOR471, 500	<i>Glyptocolastes sp.</i>
193	ASDOR450	<i>Glyptocolastes sp.</i>
194	ASDOR370, 044	<i>Ptesimogaster sp.</i>
195	ASDOR075	<i>Allorhogas sp.</i>
196	ASDOR001	<i>Whitfieldiellus variegata</i>
197	ASDOR551	<i>Allorhogas sp.</i>
198	ASDOR555, 761	<i>Allorhogas sp.</i>
199	ASDOR038	<i>Odontobracon sp.</i>
200	ASDOR037	<i>Odontobracon sp.</i>
201	ASDOR572	<i>Hansonorum sp.</i>
202	ASDOR018	<i>Hansonorum sp.</i>
203	ASDOR017, 016	<i>Hansonorum sp.</i>
204	ASDOR462	<i>Hansonorum sp.</i>
205	ASDOR015	<i>Hansonorum sp.</i>
206	ASDOR635	<i>Hansonorum sp.</i>
207	ASDOR367	<i>Doryctinae</i>
208	ASDOR434	<i>Masonius sp.</i>
209	ASDOR055	<i>Masonius sp.</i>
210	ASDOR780, 465	<i>Notiosphatius</i>
211	ASDOR464	<i>Doryctinae</i>
212	ASDOR514	<i>Doryctinae</i>
213	ASDOR080, 077	<i>Allorhogas sp.</i>
214	ASDOR642	<i>Allorhogas sp.</i>
215	ASDOR765	<i>Allorhogas sp.</i>
216	ASDOR469	<i>Allorhogas sp.</i>
217	ASDOR318	<i>Glyptocolastes sp.</i>
218	ASDOR084	<i>Allorhogas sp.</i>
219	ASDOR074	<i>Allorhogas sp.</i>
220	ASDOR767, 768, 321	<i>Allorhogas sp.</i>
221	ASDOR488, 607	<i>Allorhogas sp.</i>
222	ASDOR759, 776, 777	<i>Allorhogas sp.</i>
223	ASDOR763, 762	<i>Allorhogas sp.</i>
224	ASDOR517, 519, 472, 518	<i>Allorhogas sp.</i>

225	ASDOR764	<i>Allorhogas</i> sp.
226	ASDOR455	<i>Allorhogas</i> sp.
227	ASDOR079	<i>Allorhogas</i> sp.
228	ASDOR447, 446	<i>Doryctinae</i>
229	ASDOR778, 470	<i>Allorhogas</i> sp.
230	ASDOR458	<i>Allorhogas</i> sp.
231	ASDOR041	<i>Allorhogas</i> sp.
232	ASDOR457, 350, 456, 081	<i>Allorhogas</i> sp.
233	ASDOR435	<i>Allorhogas</i> sp.
234	ASDOR051	<i>Psenobolus</i> sp.
235	ASDOR082	<i>Allorhogas</i> sp.
236	ASDOR046	<i>Callihormius</i> sp.
237	ASDOR048	<i>Callihormius</i> sp.
238	ASDOR459	<i>Doryctinae</i>
239	ASDOR449	<i>Coiba</i> sp.
240	ASDOR571	<i>Coiba</i> sp.
241	ASDOR027, 028, 020, 024, 036, 021	<i>lare</i> sp.
242	ASDOR610	<i>Doryctinae</i>
243	ASDOR013, 011	<i>Doryctinae</i>
244	ASDOR010	<i>Doryctinae</i>
245	ASDOR033, 030	<i>lare</i> sp.
246	ASDOR035	<i>lare</i> sp.
247	ASDOR029, 022, 025, 023, 026	<i>lare</i> sp.
248	ASDOR031	<i>lare</i> sp.
249	ASDOR050	<i>Leluthia</i> sp.
250	ASDOR073	<i>Allorhogas</i> sp.
251	ASDOR009, 008	<i>Panama</i> sp.
252	ASDOR039	<i>Janzenia</i> sp.
253	ASDOR453	<i>Callihormius</i> sp.
254	ASDOR369, 540	<i>Callihormius</i> sp.
255	ASDOR049	<i>Callihormius</i> sp.
256	ASDOR047	<i>Callihormius</i> sp.
257	ASDOR045	<i>Callihormius</i> sp.
258	ASDOR097	<i>Callihormius</i> sp.
259	ASDOR554	<i>Callihormius</i> sp.
260	ASDOR032	<i>Glyptocolastes</i> sp.
261	ASDOR553	<i>Curtisella</i> sp.
262	ASDOR103	<i>Ecphylus</i> sp.
263	ASDOR102	<i>Ecphylus</i> sp.
264	ASDOR539, 100, 101	<i>Ecphylus</i> sp.
265	ASDOR099	<i>Ecphylus</i> sp.
266	ASDOR361	<i>Ecphylus</i> sp.
267	ASDOR105	<i>Ecphylus</i> sp.
268	ASDOR106	<i>Ecphylus</i> sp.
269	ASDOR461	<i>Ecphylus</i> sp.
270	ASDOR057	<i>Ecphylus</i> sp.

271	ASDOR363	<i>Ecphylus</i> sp.
272	ASDOR522	<i>Ecphylus</i> sp.
273	ASDOR059, 364, 058, 061	<i>Ecphylus</i> sp.
274	ASDOR098	<i>Ecphylus</i> sp.
275	ASDOR063, 104	<i>Ecphylus</i> sp.
276	ASDOR362	<i>Ecphylus</i> sp.
277	ASDOR516	<i>Ecphylus</i> sp.
278	ASDOR365, 056	<i>Ecphylus</i> sp.
279	ASDOR107	<i>Ecphylus</i> sp.
280	ASDOR062	<i>Ecphylus</i> sp.
281	ASDOR359	<i>Ecphylus</i> sp.
282	ASDOR257	<i>Ecphylus</i> sp.
283	ASDOR375, 430, 431	<i>Spathius</i> sp.
284	ASDOR376, 378, 372, 373, 371, 377, 356, 432	<i>Spathius</i> sp.
285	ASDOR613	<i>Caenophanes</i>
286	ASDOR429	<i>Rhaconotus</i> sp.
287	ASDOR003, 002	<i>Rhaconotus</i> sp.
288	ASDOR531, 381, 454	<i>Rhaconotus</i> sp.
289	ASDOR475	<i>Rhaconotus</i> sp.

