



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Riqueza de especies de las avispas parasitoides de las  
subfamilias Agathidinae y Braconinae (Hymenoptera:  
Braconidae) en la Estación Biológica de Chamela, Jalisco,  
México.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**NATALIA DELGADO MACHUCA**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN  
2015**

México, D.F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



1. Datos del alumno

Delgado Machuca Natalia  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
308532740

2. Datos del tutor

Dr. Alejandro Zaldívar Riverón  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Biología  
Departamento de Zoología

3. Datos del sinodal 1

M. en C. Marysol Trujano Ortega  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Departamento de Biología Evolutiva

4. Datos del sinodal 2

Dr. Ismael Alejandro Hinojosa Díaz  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Biología  
Departamento de Zoología

5. Datos del sinodal 3

M. en C. Vladimir Salvador de Jesús Bonilla  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Biología  
Departamento de Zoología

6. Datos del sinodal 4

M. en C. Andrea Jiménez Marín  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Biología  
Departamento de Zoología

7. Datos del sinodal 5

Dr. Juan José Morrone Lupi  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Departamento de Biología Evolutiva

9. Datos del trabajo escrito

Riqueza de especies de avispas parasitoides de las subfamilias Agathidinae y Braconinae (Hymenoptera: Braconidae) en la estación de Chamela, Jalisco, México.  
Número de Páginas 83  
Año 2015

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas aquellas personas que hicieron posible la realización y término de este trabajo.

Principalmente al Dr. Zaldívar por ser un paciente guía en el mundo de la taxonomía.

A Carlos Pedraza y a Andrea Jiménez por su paciencia y consejos en el laboratorio.

A todo el Zaldívar's team y a Cristina Mayorga por su ayuda práctica, teórica y en el laboratorio.

Al Dr. Donald Quicke y al Dr. Carlos Sarmiento por prestar su conocimiento y experiencia.

A Marysol Trujano y a Omar Avalos por guiarme durante cuatro semestres de taller.

A mis papás por siempre confiar en mí.

A todos los compañeros y profesores con los que compartí cuatro años de clases, desvelos, risas, lágrimas, salidas de campo, corajes, abrazos y borracheras.

Y al planeta por su maravillosa y misteriosa biodiversidad.

Salud y gracias.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>6</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
1.1 Orden Hymenoptera .....	9
1.2 Biología de Hymenoptera.....	12
1.3 Avispas parasitoides .....	13
1.4 Superfamilia Ichneumonoidea .....	15
1.5 Familia Braconidae.....	18
1.6 Subfamilia Braconinae .....	19
1.7 Subfamilia Agathidinae.....	23
1.8 Código de Barras de ADN de la vida .....	28
1.9 Taxonomía integradora.....	29
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>29</b>
<b>3. OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>30</b>
3.1 Objetivos particulares .....	30
<b>4. MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1 Área de estudio: Reserva Natural de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco. ....	31
4.3 Obtención e identificación de ejemplares .....	33
4.4 Obtención de secuencias .....	34
4.5 Análisis de Secuencias y delimitación de especies.....	34
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
5.2.2 Delimitación de especies mediante caracteres moleculares .....	41
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>58</b>
6.1 Riqueza de especies.....	58
6.2 Delimitación de especies .....	60
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>68</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>70</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Vista anterior de la cabeza. a) condición ciclostoma del clípeo. b) condición no ciclostoma del clípeo y labrum cóncavo. Tomado de Sharkey (1998). .....	16
<b>Figura 2.</b> Alas características de Braconinae: ausencia de la vena transversa m-cu del la posterior y vena M+CU del ala posterior menos de 0,5 veces la longitud de la vena 1M. Tomado de Quicke, (1988).....	20
<b>Figura 4.</b> Ala característica de la subfamilia Agathidinae. a) reducción de la celda marginal R1. b) segunda celda submarginal triangular. ....	24
<b>Figura 5.</b> Mapa de la región donde se encuentra el sitio de estudio, Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. ( <a href="http://ww2.oikos.unam.mx/CIeco/comunicacion/index.php?option=com_content&amp;task=view&amp;id=12&amp;Itemid=192">http://ww2.oikos.unam.mx/CIeco/comunicacion/index.php?option=com_content&amp;task=view&amp;id=12&amp;Itemid=192</a> ) .....	32
<b>Figura 7.</b> <i>Gozmanycomp</i> Papp (Braconidae: Braconinae) .....	40
<b>Figura 9.</b> Árbol de distancias para el gen COI reconstruido con el método de NJ de ejemplares de la subfamilia Braconinae de la estación de Biología de Chamela, Jalisco. Los números en las ramas corresponden al número de clado en que fue separada esa morfoespecie.....	43
<b>Figura 13.</b> Ejemplares representativos del género <i>Bracon</i> . a) Morfoespecie 1. b) Morfoespecie 2. c) Morfoespecie 4. d) Morfoespecie 5. e) Morfoespecie 7. ....	47
<b>Figura 14.</b> Árbol de distancias genéticas para el gen COI, reconstruido mediante el método de NJ de ejemplares de la subfamilia Agathidinae de la estación biológica de Chamela Jalisco.....	50
<b>Figura 15.</b> Árbol ultramétrico de las especies de la subfamilia Agathidinae en donde se muestran las especies obtenidas con el método de GMYC. Cada cuadro representa una especie y cada color representa un género.....	51
<b>Figura 20.</b> Fragmento del árbol de NJ correspondiente a las tres morfoespecies del género <i>Zelomorpha</i> . 1) <i>Z. bejaranoi</i> . 2) <i>Z. lenisterna</i> . 3) <i>Z. arizonensis</i> .....	55
<b>Figura 21.</b> Fragmento del árbol ultramétrico correspondiente al género <i>Zelomorpha</i> . Las líneas azules denotan los tres grupos en los que el modelo de GMYC separó el tercer grupo del árbol de NJ. ....	56
<b>Figura 22.</b> a) <i>Bassus</i> sp.1 b) <i>Bassus</i> sp.2 c) <i>Bassus</i> sp.3.....	57

## RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio taxonómico de las avispas parasitoides de la subfamilias Agathidinae y Braconinae de la región de Chamela en el estado de Jalisco. La identificación de especies se realizó revisando caracteres de morfología externa así como el fragmento del gen mitocondrial citocromo oxidasa I del código de barras de la vida, empleando para ello el criterio del 2% de distancia genética, así como el modelo de GMYC para delimitar las especies. Se revisaron 314 ejemplares pertenecientes a recolectas realizadas entre los años 2009-2012. En total, se determinaron seis géneros para Agathidinae, de los cuales se discriminaron 17 especies usando caracteres morfológicos y el modelo de GMYC, así como 13 especies mediante el criterio del 2% de distancia genética. En el caso de Braconinae se identificaron ocho géneros, 27 especies mediante caracteres morfológicos y 31 mediante distancias genéticas. No fue posible delimitar especies usando el model de GMYC ya que la mayoría de linajes recuperados estaban representados por un solo ejemplar. De este grupo se encontró un nuevo registro para el país, correspondiente al género *Gozmanycomp*. Se identificaron incongruencias en la delimitación de especies de los géneros *Zelomorpha*, *Alabagrus* y *Bassus* de la subfamilia Agathidinae, así como para especies de los géneros *Digonogastra* y *Bracon* de la subfamilia Braconinae.

## 1. INTRODUCCIÓN

Agathidinae y Braconinae son dos subfamilias muy diversas de avispas parasitoides pertenecientes a la familia Braconidae, a la superfamilia Ichneumonoidea y al orden Hymenoptera. Ambas subfamilias se distribuyen de manera cosmopolita, aunque los Braconinos son más diversos en Eurasia y África (Quicke, 1998), mientras que los Agatidinos, excepto algunos géneros, son más diversos en las zonas húmedas del mundo (Sharkey, 1992). Los dos grupos están conformados por avispas de tamaño pequeño, poco llamativas, difíciles de determinar y de hábitos poco conocidos, por lo que se han realizado escasos trabajos taxonómicos sobre estos grupos. Particularmente en México, existen pocas o ninguna clave dicotómica para determinar especies sin embargo, bajo el criterio de taxonomía integradora es posible combinar métodos de disciplinas como la genética y la biología molecular con información morfológica, para respaldar las hipótesis taxonómicas con base en varias fuentes de información y así, delimitar de manera robusta a los distintos linajes evolutivos (Fujita et al., 2012). En este contexto, las especies de las subfamilias Agathidinae y Braconinae son buenas candidatas a un estudio taxonómico de este tipo ya que la delimitación mediante caracteres morfológicos es limitada y se conoce poco sobre su distribución y abundancia en México.

Como sitio de estudio se definió la Reserva de la Biósfera de Chamela-Cuixmala, en Jalisco, la cual está compuesta por 13,142 hectáreas de selva baja y mediana, caducifolia y subcaducifolia bien conservada, los cuales son tipos de vegetación representativos del país (Trejo y Dirzo, 2000). Se tomó la recolecta de los años 2009-2012 realizada en área de la RBCC usando diversos métodos y trampas. De este material se discriminó a los ejemplares pertenecientes a las subfamilias Agathidinae y Braconinae con el objetivo de determinar la riqueza de las especies correspondientes a cada una de ellas en el área protegida de Chamela, para lo cual se usaron caracteres de morfología externa y caracteres moleculares bajo el criterio de taxonomía integradora. Se analizaron 103 secuencias obtenidas a partir de la amplificación del gen mitocondrial del citocromo oxidasa I, usando el criterio del 2% de distancias genéticas y el método de coalescencia GMYC, los cuales usan distintos modelos de evolución para aproximarse a delimitación de especies.

A partir del análisis de las secuencias y la revisión morfológica de 314 ejemplares, se encontraron incongruencias entre los distintos métodos de delimitación que permitieron establecer tantas especies para la familia Agathidinae y tantas para la familia Braconinae.

## 1.1 Orden Hymenoptera

El orden Hymenoptera es uno de los grupos más diversos de insectos, lo cual implica que es de los grupos de animales con mayor número de especies en el planeta (Hanson y Gauld, 2006). Desde que aparecieron en el periodo Triásico hace más de 220 millones de años, los himenópteros han colonizado prácticamente todos los ecosistemas terrestres, representando la radiación de insectos más exitosa de la Era Mesozoica, además de que en el Jurásico tardío ya se habían establecido la mayoría de los grupos actuales (Grissell, 1999).

Hoy en día, los himenópteros poseen importancia ecológica, económica, médica y agronómica enorme. Por ejemplo, tan sólo en el año 2013, en el mundo se produjeron 1,662,797 toneladas de miel de abeja (<http://www.fao.org/home/es/>), y en países como Estados Unidos, las abejas son reproducidas con el único propósito de polinizar los cultivos destinados a alimentar a la población (Bond et al., 2014). Otros aspectos de su biología también han sido aprovechados para nuestro beneficio; por ejemplo, muchas especies de parasitoides se utilizan en programas de control biológico de plagas como coleópteros, dípteros o lepidópteros que dañan cultivos de maíz, arroz, caña de azúcar, árboles frutales o soya, lo cual ha sido muy exitoso como método alternativo al uso de pesticidas químicos que contaminan el suelo y el agua (van Lenteren, 2012). Debido a esto, el estudio de la sistemática del orden ha incorporado herramientas nuevas de la genética y la biología molecular, con el objetivo de entender con mayor profundidad la diversidad de estos insectos.

Los grupos que conforman el orden Hymenoptera son mejor conocidos como hormigas, abejas y avispas. No obstante, la diversidad taxonómica y biológica del grupo es muy amplia, y abarca especies sociales, solitarias, parasitoides y depredadoras. Sharkey (2007) menciona las siguientes sinapomorfias para los miembros de Hymenoptera basándose en los trabajos de Kristensen (1991), Mason y Huber (1993), Heraty et al. (1994), Vilhelmsen (1996) Paulus (1979) y Vilhelmsen (2001):

1. Clípeo esclerosado (Vilhelmsen, 1996).
2. Complejo labio maxilar, en el cual el labio se une a la maxila por los costados y no directamente a la cabeza (Mason y Huber, 1993).
3. Laterocervix fusionado con pro-prepisternum (Kristensen, 1991).

4. Músculos posteriores de la notocoxa ausentes y meron no demarcado en la coxa (Kristensen, 1991).
5. Espolón apical de la tibia anterior modificado como limpiador de antenas (Sharkey, 2007).
6. Prefemur (trocantero) presente (Sharkey, 2007).
7. Venas anales del ala anterior que no alcanzan el margen del ala (Sharkey, 2007).
8. Presencia de *hamuli* marginales en el ala posterior. Esto permite que el par de alas posteriores y anteriores actúen como una sola al momento del vuelo (Mason y Huber 1993).
9. Presencia de extremidades mesofurcales anteriores (Heraty, et al., 1994).
10. Presencia de dos mesofurcales-laterofragmales (Heraty, et al., 1994).
11. Tergos abdominales que se sobrelapan con el esterno. Tergos abdominales y esternos unidos con la porción lateral de cada esternito y cubren parcialmente una porción del siguiente segmento (Kristensen 1991).
12. Espiráculos abdominales cubiertos por una cutícula esclerotizada (Kristensen, 1991).
13. Anillo basal y volselas presentes en los genitales de los machos (Sharkey, 2007).
14. Presencia de una articulación basal asociada a los músculos del ovipositor. (Sharkey, 2007). Esto permite la posición vertical del ovipositor a manera de taladro. (Mason y Huber, 1993).
15. Ojo larval con una cornea cubriendo varias omatidias (Paulus, 1979).
16. Haplodiploidía. Los machos son el producto haploide de huevos sin fertilizar, mientras que las hembras son el producto diploide de huevos fertilizados (Sharkey, 2007).
17. Presencia de apodemas cordales en el tergo abdominal 9 en hembras (Sharkey, 2007).
18. Presencia de cencros (parches en el metanoto en los cuales las alas posteriores se sujetan cuando están en reposo) (Sharkey, 2007).

De acuerdo con los caracteres mencionados arriba, el orden Hymenoptera es reconocido como monofilético (Vilhelmsen, 2001), aunque tradicionalmente se reconocen dos grupos o subórdenes: Symphyta y Apocrita (Tabla 1). El primero está conformado por insectos principalmente fitófagos, es de origen más antiguo que Apocrita (Quicke, 1997) y también es menos diverso (Sharkey, 2007). Los fósiles más antiguos de este suborden pertenecen a la familia Xyalidae, los cuales son insectos de hábitos fitófagos y características morfológicas plesiomórficas que no se encuentran en el resto de los

himenópteros, lo cual permite suponer que conforman el grupo ancestral del que derivan los otros grupos del orden (Rasnitsyn, 1980).

Actualmente, Symphyta es reconocido como un grupo parafilético con respecto a Apocrita que se recupera como monofilético (Rasnitsyn, 1988; Vilhelmsen et al, 2010), lo cual significa que esta subdivisión del orden no refleja las relaciones naturales del grupo, aunque la nomenclatura se siga utilizando por conveniencia. Dentro de Symphyta se recupera a la familia Orussidae como el grupo hermano de Apócrita (Heraty et al., 2011; Sharkey, 2007), por lo que se infiere que el hábito de parasitoidismo apareció una sola vez en el ancestro Orussidae + Apocrita a través de una vía intermedia de hábitos barrenadores (Schulmeister et al., 2002). Esta novedad evolutiva, junto con la reducción del primer y segundo segmentos abdominales permitió una mayor articulación entre el mesosoma y el metasoma, lo cual permitió que los miembros de Apocrita utilizaran toda clase de insectos como huésped para sus larvas, dando lugar a la radiación del grupo y a su diversidad actual (Nieves-Aldrey et al., 2006)

**Tabla 1.** Principales diferencias morfológicas y de comportamiento entre los subórdenes Symphyta y Apocrita (Mason y Huber, 1993; Hanson y Gauld, 2006; Nieves-Aldrey et al., 2006; Sharkey, 2007).

<b>Symphyta</b>	<b>Apocrita</b>
Metasoma ampliamente unido al mesosoma	Cintura angosta, conformada por el propodeo y primer segmento abdominal.
Larva fitófaga con forma de oruga. Típicamente poseen tres apéndices torácicos, 5 proapéndices abdominales, un ojo simple y antenas. La búsqueda del huésped es activa.	Larva sin extremidades. Poco esclerosada y con segmentación reducida. El huevo se coloca directamente en el huésped.
Ovipositor modificado para perforar tejido vegetal.	Ovipositor de morfología variada.
Grupo conformado por las moscas-sierra, las avispas de la	Grupo conformado por dos subgrupos: Aculeata y

madera y Orussidae.	Parasítica.
---------------------	-------------

Hoy en día, el suborden Apocrita contiene al 95% de las especies de himenópteros (Penacchio y Strand, 2006). Esta diversidad se originó durante el Jurásico medio hace aproximadamente 160 millones de años, y su radiación se produjo durante el periodo Cretácico, al final del cual ya existían todas las superfamilias y la mayoría de las familias actuales (Nieves-Aldrey et al., 2006). El grupo está conformado por dos subgrupos o divisiones: Aculeata y Parasítica. El primer grupo incluye a aquellos himenópteros que utilizan la estructura de ovipositor exclusivamente como aguijón, expulsando los huevos por la base del ovipositor (Sharkey, 2007), mientras que Parasítica agrupa un conjunto heterogéneo de superfamilias sin aguijón y de hábitos principalmente parasíticos y parasitoides. Sin embargo, este último es parafilético con respecto a Aculeata (Hanson y Gauld, 2006). La monofilia de Aculeata es demostrable con base en la modificación del ovipositor en aguijón, la cual apareció una sola vez durante la evolución del grupo (Wharton, 1998). Además, Dawton y Austin (2001) recuperaron a Aculeata como grupo basal dentro de Apocrita con base en caracteres morfológicos y moleculares.

## 1.2 Biología de Hymenoptera

Los himenópteros son insectos holometábolos endopterigotos. Esto significa que realizan metamorfosis completa pasando por el estado de huevo, larva, pupa y adulto o imago (Hanson y Gauld, 2006). La fecundación es interna y la determinación del sexo es mediante el sistema haplo-diploide, resultando en hembras diploides y machos haploides (Mason y Huber, 1993). Esto está estrechamente relacionado con la evolución del comportamiento eusocial de los himenópteros, porque permite regular la proporción de sexos en una colonia, lo cual dio lugar al desarrollo de hábitos característicos como el cuidado cooperativo de la progenie, la división del trabajo y el solapamiento de generaciones (Bourke, 1988). Esta estrategia de sobrevivencia es muy exitosa y ha sido adquirida varias veces de manera independiente a lo largo de la historia evolutiva de los himenópteros (Vilhelmsen, 2001). Hoy en día se observa en diferentes especies de abejas, avispas y hormigas.

En cuanto a la alimentación en himenópteros, los integrantes de Symphyta en estado larvario pueden degradar celulosa, por lo que se alimentan de hojas y madera, a excepción

de los miembros de Orussidae que parasitan coleópteros de la madera y posiblemente fueron el primer grupo de himenópteros en donde apareció esta estrategia (Vilhelmsen, 2001). En el caso particular de las superfamilias Cephoidea, Siricoidea y Xiphydrioidea, un hongo en específico es inoculado en la madera durante la oviposición, facilitando la degradación de celulosa para las larvas (Sharkey, 2007). Es posible que el tipo de alimentación del estado larvario refleje el proceso evolutivo del orden, comenzando por la herbivoría, para continuar con la ingesta de tejido vegetal degradado por hongos, de lo cual pudo derivarse el parasitismo sobre otros himenópteros y coleópteros xilófagos al oviponer sobre la larva de estos insectos que barrenan la corteza de los árboles (Handlirsch, 1907; Sharkey y Fernández, 2006)

En el caso del suborden Apocrita, la división Parasitica es un grupo de superfamilias principalmente parasitoides (Wharton, 1998), aunque dentro de este existen numerosos casos de convergencia y reversiones a la condición fitófaga como el curioso caso de los agaónidos (Chalcidoidea), que se alimentan exclusivamente de higos, los cuales también son polinizados de esta manera (Sharkey y Fernández, 2006). Por su parte, la división Aculeata está conformada por los Apiformes (abejas), avispas depredadoras, parasitoides y Formicidae (Hormigas) (Sharkey, 2007). Entre estos grupos se pueden observar diversos hábitos alimenticios, desde fitófagos, como las abejas y las hormigas recolectoras de polen y semillas, hasta aquellos parasitoides, algunos carroñeros, carnívoros y omnívoros.

Debido a la enorme diversidad que presenta el orden, resulta difícil generalizar con respecto a su biología. Sin embargo, el conocer la morfología de los estados de desarrollo, el tipo de alimentación en cada uno y los hábitos solitarios o sociales de los distintos grupos de himenópteros, permite localizarlos con mayor facilidad en su hábitat natural, en muchos casos determinar su taxonomía, así como comprender con mayor facilidad su papel en los ecosistemas y en las cadenas tróficas. No obstante, hay que tomar en cuenta que existen muchas excepciones a la regla y que en algunos casos, la diferencia entre un hábito y otro, es muy sutil (Quicke, 1997).

### **1.3 Avispas parasitoides**

Se conocen como parasitoides a aquellos individuos que poseen una asociación estrecha con otro organismo, del cual se alimentan en alguna etapa de su desarrollo tal como lo haría un parásito verdadero; no obstante, un parasitoide invariablemente mata a su huésped (Quicke, 1997). Los himenópteros parasitoides aparecen en el registro fósil por

primera vez en el Jurásico medio durante la primera diversificación del orden, hace aproximadamente 160 millones de años (Nieves-Aldrey et al., 2006). Aunque esta estrategia evolucionó independientemente en siete órdenes de insectos (Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Trichoptera, Neuroptera, Strepsiptera e Hymenoptera), existen diferencias importantes en su biología, las cuales repercuten en su diversidad y abundancia (Quicke, 1997). Particularmente, Hymenoptera es el orden que incluye más especies de parasitoides, y a su vez, estos conforman el grupo más grande dentro del orden (Quicke, 1997 y Wharton, 1998).

Se reconocen dos estrategias principales de vida parasitoide, idiobiontes y koinobiontes (Quicke, 1997). La principal diferencia entre ambas estrategias radica en que el huésped de un parasitoide idiobionte deja de moverse y desarrollarse cuando es invadido, mientras que aquel de un parasitoide koinobionte continúa su desarrollo durante un periodo de tiempo (Penacchio y Strand, 2006). Otra característica distintiva consiste en el desarrollo endoparasitoide o ectoparasitoide de la larva en el huésped (Quicke, 1997). Generalmente, la estrategia koinobionte implica endoparasitoidismo y conlleva modificaciones fisiológicas que permiten contrarrestar las defensas del huésped, mientras que la estrategia idiobionte implica una mayor cantidad de adaptaciones morfológicas (Hanson y Gauld, 1995).

Como se mencionó antes, la hipótesis más aceptada con respecto a la evolución del parasitoidismo implica un ancestro xilófago que oviponía en madera, a partir del cual surgió la estrategia de oviponer sobre la larva de insectos barrenadores (Coleoptera) habitando el mismo nicho (Handlirsch, 1907). Sin embargo, para confirmar esta hipótesis, es necesaria la resolución completa de la filogenia del orden, lo cual aún no se consigue (Quicke, 1997).

El rango de huéspedes utilizados por los parasitoides de Hymenoptera abarca prácticamente todos los órdenes de insectos, e incluso otros artrópodos como arañas, ácaros, pseudoscorpiones y especies de otras clases como Nematoda, los cuales son invadidos por miembros de la subfamilia Tetrastichinae (Sharkey y Fernandez, 2006a). Debido a que la estrategia de parasitoidismo implica que casi invariablemente el huésped muere sin completar su desarrollo, la presencia de parasitoides en los ecosistemas tiene profundas implicaciones en la dinámica de poblaciones de artrópodos (Quicke, 1997).

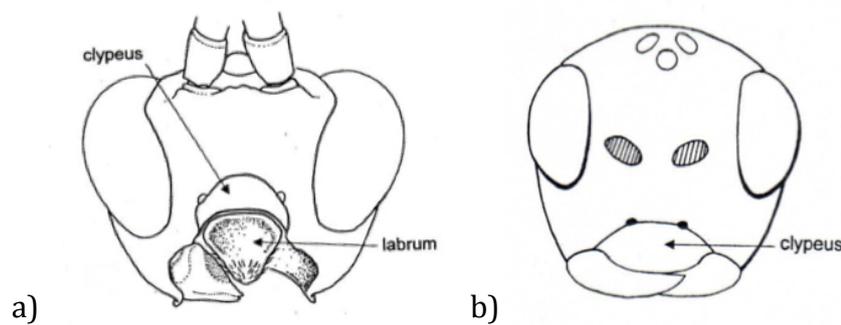
#### 1.4 Superfamilia Ichneumonoidea

Con más de 60,000 especies descritas, la superfamilia Ichneumonoidea es de distribución cosmopolita, representa el linaje más grande del suborden Apocrita (Yu et al., 2012), y es también la superfamilia más grande del orden Hymenoptera (Belshaw et al., 2001). Filogenéticamente, Ichneumonoidea se recupera como grupo monofilético y está conformada por las familias Braconidae e Ichneumonidae, las cuales generalmente son parasitoides de larvas y pupas de otros insectos holometábolos (Sharkey y Wahl, 2006). Gauld y Shaw (2006) enumeran siete características diagnósticas apomórficas para esta superfamilia:

1. Mandíbulas con dos dientes en organismos adultos, aunque algunos grupos presentan reducción a uno o incremento secundario hasta de tres o cuatro (Mason, 1987; Sharkey y Wahl, 1992).
2. Prepecto fusionado al borde lateral posterior del pronoto, espiráculo mesotorácico directamente sobre el prepecto, y una fosa externa cerca del borde posterior del pronoto (Gibson, 1985).
3. Ala anterior con venas C y R fusionadas de tal modo que la celda costal está ausente (Sharkey y Wahl, 2006).
4. Esterno metasomal I dividido en dos, una parte anterior muy esclerosada y una parte posterior menos esclerosada (Mason, 1987).
5. Tergos metasomales I y II articulados por medio de un par de cóndilos dorso-laterales situados en el borde posterior del tergo I y en el borde anterior del tergo II (Mason 1987).
6. Cápsula cefálica de la etapa larval final con espolón hipostomal (Sharkey y Wahl, 1992). Aunque en algunos grupos de Ichneumonoidea que no forman un capullo, se ha perdido de manera secundaria (Short, 1978).
7. Acicalamiento simultáneo de ambos pares de alas levantadas (Basibuyuk y Qicke, 1999).

Las principales diferencias morfológicas entre las familias Braconidae e Ichneumonidae se aprecian en la venación de las alas y en los tergos metasomales (Sharkey y Wahl, 2006). Sin embargo, también existen diferencias conductuales con respecto a sus hábitos parasitoides (Gauld y Shaw, 2006).

Antes de hablar de la familia que concierne este trabajo (Braconidae) resulta útil mencionar que se encuentra subdividida en dos grupos informales, ciclóstomos y no ciclóstomos (Figura 1 y Tabla 2). Los ciclóstomos se caracterizan por poseer la porción ventral del cílopeo retraída y el labrum cóncavo formando una depresión redondeada arriba de las mandíbulas (Figura 1), aunque algunas subfamilias han perdido esta particularidad de manera secundaria (Belshaw et al., 1998). Estos insectos conforman un grupo de avispa predominantemente ectoparasitoides. No obstante, también existen subfamilias en donde el endoparasitismo ha evolucionado de manera independiente, mientras que en otras existen especies de hábitos fitófagos (Zaldívar-Riverón et al., 2006 y 2007). Por otra parte, los no ciclóstomos carecen de estas características morfológicas de la cabeza (Figura 1) y son principalmente koinobiontes endoparasitoides (Wharton, 1998).



**Figura 1.** Vista anterior de la cabeza. a) condición ciclóstoma del cílopeo. b) condición no ciclóstoma del cílopeo y labrum cóncavo. Tomado de Sharkey (1998).

La relación filogenética entre ciclóstomos y no ciclóstomos es controvertida; no obstante, existen tres principales hipótesis. La primera, propone a los no ciclóstomos como un grupo derivado de los ciclóstomos (Quicke y van Achterberg, 1990; Capek, 1970). La segunda propone que los no ciclóstomos y los ciclóstomos son grupos hermanos derivados de un ancestro común, posiblemente un parasitoide de larvas de coleópteros xilófagos (Tobias, 1967; van Achterberg, 1984; Wharton et al., 1992; Belshaw et al., 1998; Gauld, 1998; Shi et al., 2005). Una tercera hipótesis propone a los no ciclóstomos como el grupo basal que dio lugar a los ciclóstomos (Dowton et al., 1998). Sin embargo, hoy en día no existe evidencia contundente para dar más peso a alguna de estas hipótesis (Sharanowsky et al., 2011).

**Tabla 2.** Lista de subfamilias de ciclóstomos y no ciclóstomos. Tomado de Sharanowsky et al., 2011. \*Familias incluidas en el presente trabajo.

<b>Ciclóstomos</b>	<b>No ciclóstomos</b>
Apozyginae	Aphidiinae
Trachypetinae	Acampsohelconinae
Rhyssalinae	Amicrocentrinae
Mesostoinae	Blacinae
Betylobraconinae	Cenocoeliinae
Doryctinae	Charmontinae
Hormiinae	Ecnomiinae
Lysiterminae	Helconinae
Pambolinae	Homolobinae
Rogadinae	Macrocentrinae
Rhysipolinae	Masoninae
*Braconinae	Microtypinae
Gnaptodontinae	Meteorideinae
Alysiinae	Orgilinae
Exothecinae	Xiphozeliinae
Opiinae	*Agathidinae
	Silgafinae
	Ephorinae
	Meteorinae
	Neoneurinae
	Dirrhopinae
	Ichneutinae
	Cardiochilinae
	Cheloninae
	Khoikhoiinae
	Mendesellinae
	Microgastrinae
	Miracinae

## 1.5 Familia Braconidae

Braconidae es la segunda familia más grande del orden Hymenoptera después de Ichneumonidae. Representa un grupo monofilético (Sharkey y Wahl, 1992) y está conformada por 46 subfamilias, 1057 géneros y 19,434 especies descritas, incluyendo la especie fósil más antigua, *Protorrhysalodes arnaudi* Perrichot, Neil y Quicke. (Yu et al., 2012). Sin embargo, se estima que hay una diversidad real de aproximadamente 40,000 especies y que aquellas aún por describir se encuentran en su mayoría en los trópicos del planeta (Jones et al., 2009).

En nuestro país, el trabajo con braconidos ha estado enfocado en la taxonomía del grupo, su ecología y la aplicación como control biológico. Particularmente en el área de la taxonomía, el estudio ha estado dominado por la descripción de taxones aislados, mientras que hay pocos trabajos faunísticos regionales o de revisiones taxonómicas profundas (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014). Los géneros relativamente mejor estudiados en México son *Aleoidea* Wesmael y *Rogas* Nees de la subfamilia Rogadinae (Delfin-González y Wharton, 2000 y 2002), así como *Alabagrus* Enderlein y *Crassomicrodus* Ashmead de Agathidinae (Sharkey, 1988; Figueroa et al., 2011). La revisión de las publicaciones y nuevas determinaciones en México, arrojó un registro de 35 subfamilias de Braconidae, 318 géneros, 704 especies y 712 morfoespecies (Coronado-Blanco et al., 2012) de los cuales 282 especies aparecen como endémicas. De estos números, la subfamilia mejor representada es Doryctinae, aunque Agathidinae posee un mayor número de especies, a pesar de lo cual es importante recalcar que estos números reflejan el grado de esfuerzo de trabajo taxonómico, y no la riqueza real de estos grupos en nuestro país (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014).

La mayoría de las especies de Braconidae son endoparasitoides koinobiontes debido a que atacan larvas de otros insectos holometábolos (Sharkey y Wahl, 1992; Quicke, 1997). Sin embargo, se conocen algunas especies fitófagas que producen agallas en el tejido vegetal (Marsh, 2002; Zaldívar-Riverón et al., 2006 y 2007). En general, los hábitos y estrategias de vida que predominan en este grupo les han permitido colonizar con éxito todos los ambientes terrestres; no obstante, se les encuentra preferentemente en áreas

húmedas y boscosas, en algunos casos encontrándose estrechamente asociados a fauna dulceacuícola en regiones templadas (Shaw, 2006).

### 1.6 Subfamilia Braconinae

La subfamilia Braconinae está compuesta por 188 géneros y 1035 especies descritas a nivel mundial (Yu et al., 2012), aunque se estima que existen aproximadamente 7399 especies en el planeta (Jones et al., 2009). Este grupo es de distribución cosmopolita; se ha reportado una mayor diversidad genérica en los trópicos de Eurasia y África, aunque un gran número de los géneros encontrados en el Neotrópico son endémicos (Quicke, 1998). Por lo tanto, se considera que dada la falta de estudios acerca de la fauna de braconinos en América, su diversidad y riqueza está siendo subestimada (Wharton y Mercado, 2012).

La mayoría de los braconinos recolectados en el América son ectoparasitoides idiobiontes de larvas de lepidópteros y coleópteros (Quicke, 1998), aunque existe una especie recolectada y estudiada en Venezuela, *Bracon phytophagus* Quicke, que presenta hábitos fitófagos (Flores et al., 2005), así como un género endoparasitoide (Zaldívar-Riverón et al., 2006). Los géneros del grupo que más se han reportado en las recolectas son *Digonogastra* Ashmead y *Bracon* Fabricius, ya que son abundantes, de tamaño relativamente grande y poseen colores brillantes entre el rojo, el naranja y el amarillo, que se consideran aposemáticos (Hanson y Gauld, 2006).

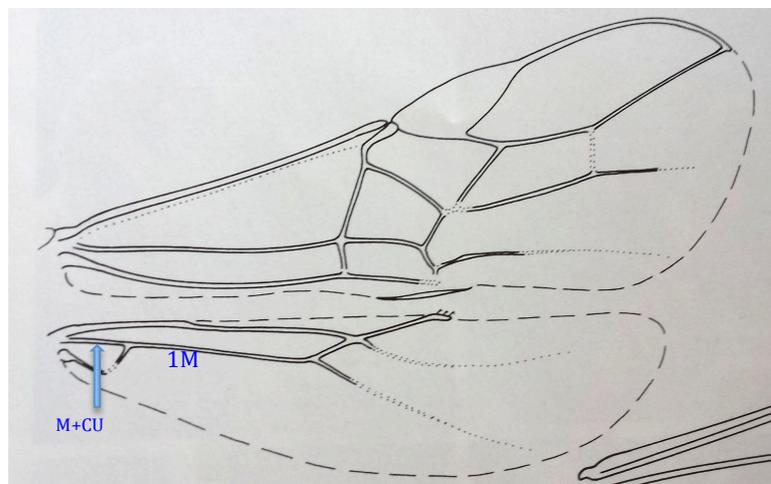
Debido a que varias especies poseen huéspedes específicos y en algunos casos atacan insectos herbívoros que perjudican áreas forestales o agrícolas, Braconinae es una de las subfamilias más utilizadas en métodos de control biológico (Hanson y Gauld, 2006). Por ejemplo, las especies de *Myosoma* Brullé parasitan lepidópteros barrenadores de tallos, y las especies de *Coeloides* Wesmael se especializan en coleópteros barrenadores de corteza, aunque el potencial como control biológico de esta subfamilia es limitado porque en muchos casos se desconoce la biología de las especies (Quicke, 1998).

A lo largo del tiempo, el número de géneros de esta subfamilia ha variado poco. Inicialmente, las especies del Neotrópico fueron incluidas bajo el nombre *Iphiaulax* Forester, *Ipobracon* Thomson, *Cyanopterus* Haliday o *Bracon* Fabricius; sin embargo, éstas fueron reclasificadas entre 1980 y 1990 por Quicke (1998). El género *Gnathobracon* Costa fue transferido de Rogadinae a Braconinae (Shaw y Huddleston, 1991), y varios

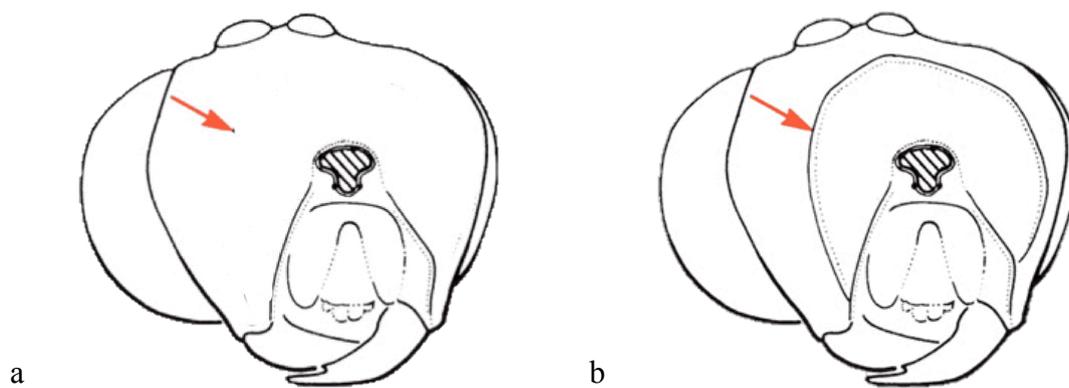
nuevos géneros se describieron entre 1970 y 1990. Un análisis filogenético molecular y morfológico entre los géneros de Braconinae recuperó dos grandes clados que corresponden a las tribus Braconini y Aphrastobraconini, así como 5 grupos más pequeños anidados dentro de estos dos clados (Belshaw et al., 2001).

Los géneros reportados para América (Tabla 3) se encuentran listados en una clave dicotómica desarrollada por Quicke (1998), en donde lista la combinación de los siguientes caracteres que definen al grupo y permiten identificarlo:

1. Olor característico que emana de invaginaciones glandulares a ambos lados del extremo anterior del metasoma cuando están vivas.
2. Condición ciclóstoma: presentan una depresión dorsal y redondeada en la parte superior de las mandíbulas formada ventralmente por el clipeo retraído y el labro cóncavo expuesto que generalmente es liso, aunque en el caso de los géneros *Alienoclypeus* Shanefelt y *Gnathobracon* esta configuración está ligeramente modificada.
3. Carina occipital siempre ausente (Figura 3).
4. Carina epicnemia siempre ausente.
5. Carina lateral longitudinal de la propleura siempre ausente.
6. Tergito medio del peciolo usualmente aplanado lateralmente con un área en forma de cúpula.
7. Vena transversa m-cu del ala posterior siempre ausente.
8. Longitud de la vena M+CU del ala posterior menos de 0.5 veces la longitud de la vena 1M (Figura 2).



**Figura 2.** Alas características de Braconinae: ausencia de la vena transversa m-cu del la posterior y vena M+CU del ala posterior menos de 0,5 veces la longitud de la vena 1M. Tomado de Quicke, (1988).



**Figura 3.** a) Ausencia de carina occipital y b) presencia de carina occipital. Tomado de “SharkeyLab” (<http://www.sharkeylab.org/sharkeylab/sharkeyGlossary.html>).

**Tabla 3.** Lista de los géneros de la subfamilia Braconinae reportados por Quicke (1998) para América.

Género	Género
<i>Lasiophorus</i> Haliday	<i>Vipio</i> Latreille
<i>Cervellus</i> Szèpligeti	<i>Myosomatoides</i> Quicke
<i>Palobracon</i> Quicke	<i>Chartobracon</i> van Achterbreg
<i>Coeloides</i> Wesmael	<i>Myosoma</i> Brullé
<i>Megcoeloides</i> Quicke	<i>Lapicida</i> Quicke
<i>Calobracon</i> Szèpligeti	<i>Pigeria</i> van Achterbreg
<i>Gracilibracon</i> Quicke	<i>Habrobracon</i> Ashmead
<i>Cycaulax</i> Cameron	<i>Bracon</i> Fabricius
<i>Compsobracon</i> Ashmead	<i>Vipiomorpha</i> Tobias
<i>Compsobraconoides</i> Quicke	<i>Alienoclypeus</i> Shenefelt
<i>Cyclaulacidea</i> Quicke y Delobel	<i>Gnathobracon</i> Costa
<i>Sacirema</i> Quicke	<i>Pheloura</i> van Achterberg
<i>Hemibracon</i> Szèpligeti	<i>Megabracon</i> Szèpligeti
<i>Atanycolus</i> Foerster	<i>Leptobracon</i> Szèpligeti
<i>Cyabioterus</i> Haliday	<i>Digonogastra</i> Viereck

El género *Bracon*, contiene al 33% de las especies de la subfamilia y se recupera como parafilético al utilizar caracteres moleculares y morfológicos. Esta situación es

consecuencia de la asignación de especies al género cuando estas no corresponden a ningún otro género existente, lo cual suele suceder en grupos mega diversos dentro de Hymenoptera (Belshaw et al., 2001). A nivel específico existen pocas claves para la identificación de braconinos de América. Muesebeck (1925) suministró una clave para el género *Bracon* de América del Norte, y posteriormente Shenefelt (1943) y Mason (1978) suministraron claves para las especies de tres géneros pequeños de América del Norte: *Atanycolus* Foerster, *Coeloides* y *Myosoma*. Finalmente, Inayatullah (1992) revisó el género *Vipio* Latreille en la realización de su tesis de doctorado (no publicada) también para especies de Norte América (Quicke, 1998).

De acuerdo con Coronado-Blanco (2012), los géneros de la subfamilia Braconinae mejor representados en México son *Bracon* con 22 especies, *Digonogastra* con 15 especies, *Iphiaulax* con 12 especies y *Vipio* con 11 especies (Tabla 4).

**Tabla 4.** Lista de los géneros de la subfamilia Braconinae presentes en México y número de especies reconocidas para cada uno de acuerdo con Coronado-Blanco (2012). \*Géneros encontrados en México que no están listados en el Manual para los éneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo (Wharton, 1998).

Género	Número de especies
<i>Bracon</i> Fabricius	22
<i>Digonogastra</i> Viereck	15
<i>Iphiaulax</i> * Förster	12
<i>Vipio</i> Latreille	11
<i>Atanycolus</i> Förster	3
<i>Coeloides</i> Wesmael	3
<i>Compsobraconoides</i> Ashmead	2
<i>Myosoma</i> Brullé	2
<i>Alienoclypeus</i> Shenefelt	1
<i>Amyosoma</i> *	1
<i>Compsobracon</i> Ashmead	1
<i>Craspedolcus</i> *	1
<i>Cyanopterus</i> *	1
<i>Cycaulax</i> Cameron	1

<i>Habrobracon</i> Ashmead	1
<i>Hemibracon</i> Szèpligeti	1
<i>Lapicida</i> Quicke	1
<i>Lasiophorus</i> Haliday	1
<i>Megacoeloides</i> Quicke	1
<i>Palobracon</i> Quicke	1
<i>Pigieria</i> van Achterberg	1
<i>Sacirema</i> Quicke	1
<i>Vipiomorpha</i> Tobias	1
23 géneros	85 especies

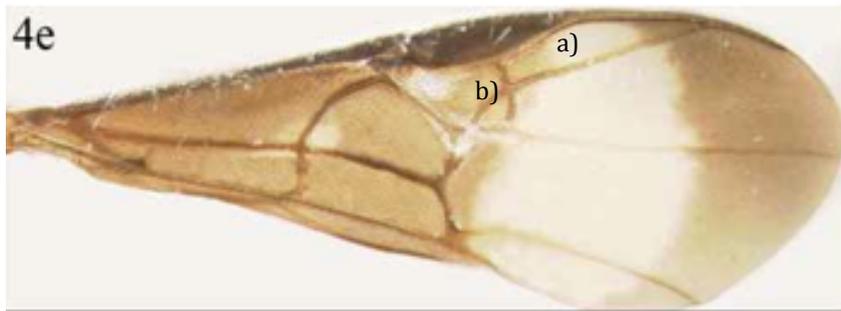
### 1.7 Subfamilia Agathidinae

La subfamilia Agathidinae está compuesta por aproximadamente 1000 especies (Yu et al., 2012), a pesar de lo cual, se estima que existen entre 1000 y 2000 más sin describir en el mundo (Sharkey, 2006). Actualmente, el grupo está compuesto por 49 géneros, de los que al menos 20 han sido reportados en México según la lista realizada por Yu et al. (2012). Estas avispas son de distribución cosmopolita sin embargo su distribución y abundancia es variable. A excepción de los géneros *Agathis* Latreille y *Earinus* Wesmael, los cuales se han encontrado preferentemente en regiones templadas, y los géneros *Zelomorpha* Ashmead, *Agathirsia* Westwood, *Agathis* Latreille, *Crassomicrodus* y *Cremnops* Förster que han sido recolectados en zonas desérticas y semi desérticas (Wharton y Mercado, 2012), su mayor diversidad se encuentra en las regiones tropicales húmedas del mundo (Sharkey y Whal, 1992).

Todas las especies conocidas de esta subfamilia son endoparasitoides koinobiontes de larvas de lepidópteros, y aunque sus hábitos e historias de vida varían dependiendo de la especie, la mayoría son solitarias y atacan el primer estadio de la larva para después emerger de ella durante el último estadio (Sharkey, 2006). En el caso de algunas especies, existen estudios detallados sobre su historia de vida (Janzen et al., 1998), por lo que se han usado como control biológico de plagas (Sharkey, 2006).

La monofilia de la subfamilia Agathidinae está confirmada por caracteres morfológicos (Sharkey y Whal, 1992) y moleculares (Sharkey, 2006). Y Sharkey propone la siguiente combinación de caracteres para determinar a la subfamilia.

1. Los machos poseen glándulas secretoras en el tergo de los segmentos 6 y 7 del metasoma (Sharkey, 1988).
2. La presencia de un doblez en el ala anterior entre el prestigma y la vena media.
3. Vena RS del ala anterior completa hasta el margen reduciendo la celda marginal R1, volviéndola muy estrecha (Figura 4) excepto en los géneros *Mesocoelus* Schulz y *Plesiocoelus* van Achterberg. Este último carácter se ha observado en otros grupos de braconidos, pero su distribución sugiere que apareció por eventos de convergencia (Sharkey y Whal, 1992).
4. Condición no ciclóstoma
5. Carina occipital ausente
6. Segunda celda submarginal del ala anterior presente en el 90% de los casos (Figura 4) y con forma usualmente triangular o cuadrada.



**Figura 4.** Ala característica de la subfamilia Agathidinae. a) reducción de la celda marginal R1. b) segunda celda submarginal triangular.

Además, Sharkey (1992) propuso un sistema de clasificación de los géneros en cinco tribus: Agathidini, Cremnoptini, Disophrini, Earinini y Microdini. No obstante, en un estudio posterior realizado por el mismo autor utilizando herramientas moleculares, se recuperaron Cremnoptini y Disophrini como tribus monofiléticas, mientras que el resto de las tribus se recuperaron de manera ambigua, por lo que se concluyó que se requiere un estudio de mayor profundidad para poder establecer una adecuada división tribal de la subfamilia (Sharkey, 2006).

En general, el número de géneros dentro de la subfamilia Agathidinae se ha mantenido estable a lo largo del tiempo (Tabla 5). Actualmente se reconocen 49 géneros y 1154 especies descritas en el mundo (Yu et al., 2012). En el caso de los agatidinos de América, Sharkey (1998) desarrolló una clave dicotómica de identificación para los 20 géneros reconocidos hasta ese momento. Posteriormente, el mismo autor publicó una revisión para los géneros de agatidinos de América, en la cual figuran 21 géneros para esta región, así como una clave para su identificación (Sharkey, 2006).

**Tabla 5.** Lista de los géneros de la subfamilia Agathidinae reconocidos por Sharkey (1998 y 2006). \* Géneros reconocidos hasta 1998 \*\* Géneros reconocidos en 2006.

<b>Géneros Sharkey 1998</b>	<b>Géneros Sharkey 2006</b>
<i>Bassus</i> Fabricius	<i>Bassus</i> Fabricius
<i>Alabagrus</i> Enderlein	<i>Alabagrus</i> Enderlein
<i>Zamicrodus</i> Viereck	<i>Zamicrodus</i> Viereck
<i>Cremnops</i> Foerster	** <i>Zelomorpha</i> Ashmead
<i>Labagathis</i> Enderlein	<i>Cremnops</i> Foerster
<i>Zacremnops</i> Sharkey y Wharton	<i>Labagathis</i> Enderlein
* <i>Dichelosus</i> Szépligeti	<i>Zacremnops</i> Sharkey y Wharton
* <i>Liopisa</i> Enderlerin	<i>Sesioctonus</i> Viereck
* <i>Coccygidium</i> Saussure	<i>Cremnops</i> Foerster
<i>Sesioctonus</i> Viereck	** <i>Amputoearinus</i> Sharkey
<i>Earinus</i> Wesmael	<i>Earinus</i> Wesmael
<i>Trachagathis</i> Viereck	<i>Trachagathis</i> Viereck
<i>Crassimicrodus</i> Ashmead	<i>Agathirsia</i> Weswood
<i>Agathis</i> Latreille	<i>Agathis</i> Latreille
<i>Agathirsia</i> Weswood	<i>Marjoriella</i> Sharkey
<i>Marjoriella</i> Sharkey	<i>Plesiocoelus</i> van Achterberg
<i>Plesiocoelus</i> van Achterberg	<i>Mesocoelus</i> Schulz
<i>Mesocoelus</i> Schulz	<i>Pharpa</i> Sharkey
<i>Pharpa</i> Sharkey	

---

\**Aerophilus Szépleligeti*

*Crassimocrodus* Ashmead

*Sesioctonus* Viereck

*Austroearinus* Sharkey \*\*

---

Los géneros *Austroearinus* y *Amputoearinus* fueron propuestos por Sharkey (2006) y dados a conocer en la revisión previamente mencionada. En ese trabajo, el género *Amputoearinus* fue recuperado como monofilético utilizando caracteres morfológicos y moleculares y se distribuye desde Costa Rica hasta el sur amazónico de Brasil y Bolivia. El género *Austroearinus* también se recuperó como monofilético, y como grupo hermano de *Amputoearinus*. Se distribuye en el centro y este de Estados Unidos, así como a lo largo de América Central, aunque su diversidad es más alta en las áreas cálidas-tropicales (Sharkey, 2006).

Los géneros *Aerophilus Szépligetii* y *Faciliagathis* Achterberg y Chen fueron sinonimizados con *Bassus* Fabricius basándose en la presencia de caracteres morfológicos particulares de *Bassus* (Sharkey, 2006). El mismo estudio arrojó, con base en un análisis molecular, tres grupos monofiléticos bien soportados dentro del género *Coccygidium* Saussure *s. l.*, por lo que se decidió restituir el género *Zelomorpha* y restringirlo a las especies de América que anteriormente se encontraban en *Coccygidium*, los cuales se distinguen por presentar una espina corta en la tibia de la pata anterior, así como una carina en la frente de la cabeza (Sharkey, 2006). Finalmente, el género *Dichelosus* Szépligetii fue sinonimizado con *Coccygidium* por Sarmiento y Sharkey (2005), ya que sus características diagnósticas indican que el primero se deriva del segundo (Sarmiento y Sharkey, 2005).

Hasta la fecha, se han reportado 20 géneros y 112 especies de agatidinos en México (Coronado-Blanco et al., 2012), que corresponden al 40% de los géneros reconocidos mundialmente. No obstante, este valor representa apenas el 0.9% de las especies descritas a nivel mundial. Por su parte, Yu et al. (2012) reportan que sólo hay 15 géneros y 104 especies en México. Esta discrepancia refleja lo poco estudiada que se encuentra la riqueza de especies de este grupo, y en general la taxonomía de los bracónidos mexicanos. Debido a esto, la capacidad para inferir patrones de distribución y relaciones biogeográficas es limitada, aunque algunas de las distribuciones conocidas contribuyen a la idea de que México constituye una zona de transición entre el Neotrópico y el Neártico, por ejemplo el

género *Agathirsia* Westwood se distribuye en Norte América y el género *Marjorella* Sharkey en Sudamérica, pero ambos se encuentran en México (Wharton y Mercado, 2012).

De acuerdo con Coronado-Blanco (2012), los géneros de Agathidinae mejor representados en México son *Alabagrus* con 31 especies, *Agathirsia* con 28 especies, *Cremnops* con 17 especies y *Crassomicrodus* con 10 especies (Tabla 7).

**Tabla 7.** Lista con los géneros de la subfamilia Agathidinae presentes en México y el número de especies reconocidas para cada uno. \*Géneros encontrados en México que no están listados en el Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo (Wharton, 1998). La nomenclatura más reciente sinonimiza *Coccygidium* con *Zelomorpha* (Sharkey, 2006).

<b>Género</b>	<b>Número de especies</b>
<i>Alabagrus</i> Enderlein	31
<i>Agathirsia</i> Weswood	28
<i>Cremnops</i> Förster	17
<i>Crassomicrodus</i> Ashmead	10
<i>Agathis</i> Letreille	4
<i>Bassus</i> Fabricius	3
* <i>Disophrys</i>	3
<i>Zacremnops</i> Sharkey y Wharton	3
<i>Earinus</i> Wesmael	2
<i>Pharpa</i> Sharkey	2
<i>Sesioctonus</i> Viereck	2
* <i>Coccygidium</i> Seaussure	1
( <i>Zelomorpha</i> ) Ashmead	
* <i>Euagathis</i>	1
<i>Marjoriella</i> Sharkey	1
<i>Mesocoelus</i> Schulz	1
<i>Plesiocoelus</i> van Achterberg	1
16 géneros	113 especies

## 1.8 Código de Barras de ADN de la vida

El código de barras de ADN de la vida, es una herramienta molecular de identificación taxonómica que complementa la identificación mediante caracteres morfológicos de grupos mega diversos como los parasitoides de Hymenoptera (Santos et al., 2011). Está basado en el supuesto de que existen secuencias genómicas estandarizadas que poseen una tasa de divergencia nucleotídica mayor que otras, por lo que reflejan la divergencia genética entre especies distintas que están cercanamente relacionadas y por lo tanto, permite su identificación taxonómica (Hebert et al., 2003). Para este tipo de análisis se utiliza una secuencia de aproximadamente 658 pb del gen mitocondrial del citocromo c oxidasa I (COI), ya que presenta ciertas ventajas sobre genes nucleares. Al ser un gen que codifica para proteínas, COI carece de intrones, está poco expuesto a la recombinación genética y su herencia es haploide (matrilineal); además, posee una tasa de mutación molecular mayor que los genes 12S y 16S rADN, su índice de sustitución en la tercera posición del codón es muy alta, y su robustez en análisis filogenéticos es apropiada (Knowlton y Weigt, 1998; Zaldivar-Riverón et al., 2010; Quicke et al., 2012).

El código de barras puede ayudar a la identificación rápida de especies, ya que en muchos casos no existen claves dicotómicas o éstas son insuficientes porque sólo sirven para identificar un estadio en particular, o sólo uno de los sexos de la especie (Hebert et al., 2003). También ayuda a evaluar el estatus de la diversidad por grupo, así como la delimitación de especies en taxones invertebradas con morfología muy conservada y la identificación de especies crípticas (Zaldivar-Riveron et al., 2010).

Dada la gran biodiversidad del planeta, la determinación taxonómica de todas las formas de vida es una tarea que requiere una gran cantidad de taxónomos con experiencia, y aun así existen casos de plasticidad fenotípica, variabilidad dentro de la misma especie o de caracteres morfológicos conservados que son una limitante importante para la creación de claves de identificación. Como respuesta a esta problemática, las herramientas moleculares como el código de barras del ADN suponen una herramienta nueva para el trabajo taxonómico (Hebert et al., 2003).

El proyecto Barcode of Life Data Systems (BOLD) constituye una base de datos internacional dedicada generar y recabar la información genética proporcionada por la secuencia correspondiente al código de barras de la vida. Actualmente existen aproximadamente 4,000,000 de secuencias en el sistema, entre las cuales están

representadas 85,129 especies de la clase Insecta, 12,100 de éstas pertenecen al orden Hymenoptera, 3233 a la familia Braconidae, 33 a la subfamilia Braconinae y 115 a Agathidinae. (BOLDSYSTEMS, 2015)

## **1.9 Taxonomía integradora**

La taxonomía es una disciplina central en la exploración y comprensión de la diversidad de la vida en el planeta, como tal tiene la tarea de describir y nombrar cada especie (Shlick-Steiner et al., 2010) Un primer reto que presenta esta tarea, consiste en llegar a un consenso entre taxónomos acerca de las bases conceptuales sobre las que se construye la unidad taxonómica de especie, y después el reto es proveer de rigor empírico a las hipótesis planteadas, así como estabilidad a los nombres asignados (Padial et al., 2010a).

La taxonomía integradora surge en respuesta a esta problemática, y en un esfuerzo por reducir la subjetividad con la que se delimitan las especies, propone hacer uso de diferentes fuentes de información teórica y metodológica proporcionadas por distintas disciplinas que estudian el origen y la evolución de la especies (Fujita et al., 2012; Padial et al., 2010a). El problema que plantea esta aproximación a la identificación taxonómica consiste en que, cuando más de una disciplina es utilizada para la identificación de linajes durante el proceso de especiación, puede existir consenso entre ellas, un consenso parcial, o total desacuerdo acerca del número de especies estudiadas (Shlick-Steiner et al., 2010). Un consenso total o casi total es una fuerte indicación de que el patrón evolutivo ha sido descubierto sin embargo, el desacuerdo implica la necesidad de proporcionar una explicación evolutiva en la que se reflejen los procesos que generan el desacuerdo, para posteriormente decidir cuál de los resultados proporcionados por las distintas disciplinas es el más plausible (Shlick-Steiner et al., 2010).

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Las avispas parasitoides tienen características biológicas muy interesantes que no han sido exploradas con suficiente profundidad, principalmente porque en su mayoría son organismos pequeños, difíciles de encontrar y que además poseen una combinación compleja de caracteres que complica su determinación e identificación para el ojo no entrenado. Esto impide que se estudien y analicen otros aspectos importantes de la biología

de estos insectos, como los patrones geográficos de su distribución, su potencial como agentes de control biológico, la historia evolutiva de los diferentes grupos y cómo están relacionados entre ellos, o el papel ecológico que tienen en los ecosistemas y la necesidad de programas de conservación. En este sentido, el presente estudio es una contribución al conocimiento de la riqueza y distribución de especies de dos de las subfamilias más diversas de la familia Braconidae, que a su vez es la segunda familia más diversa del orden, a pesar de lo cual se conoce poco sobre su diversidad y distribución en México.

Se aplicaron dos aproximaciones a la delimitación de especies con el propósito de obtener una clasificación más aproximada a la realidad biológica del grupo. La identificación a nivel de género y especie se realizó mediante caracteres morfológicos externos usando claves dicotómicas, y la determinación mediante el análisis de la secuencia de genes correspondiente al código de barras de la vida, la cual es una herramienta molecular que ha demostrado dar resultados buenos en la delimitación de especies en otros grupos de braconidos.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la riqueza de especies de braconidos de la subfamilia Braconinae y Agathidinae de la Estación Biológica de Chamela, Jalisco, utilizando herramientas de biología molecular (locus del código de barras de la vida) y morfología.

#### **3.1 Objetivos particulares**

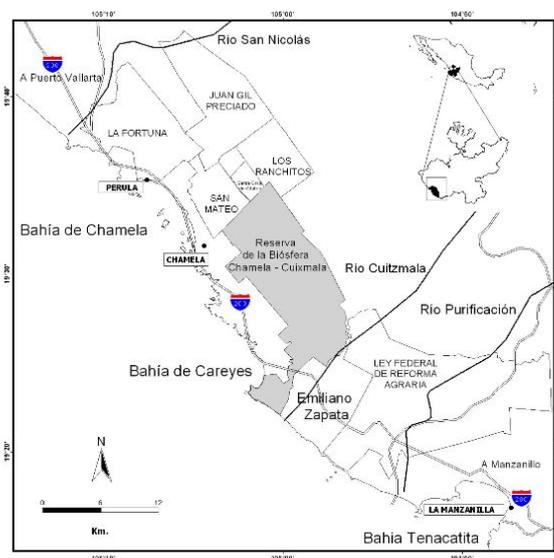
- Identificar los géneros y especies de la subfamilia Braconinae y Agathidinae recolectados en la Reserva de Chamela usando caracteres de morfología externa y secuencias del locus del código de barras de la vida
- Generar una base de datos correspondiente al código de barras de la vida de las especies de braconinos y agatidinos de la región de Chamela, Jalisco.
- Comparar la riqueza de especies de las diferentes subfamilias de braconidos que se han estudiado en la región.

### **4. MÉTODOS**

#### 4.1 Área de estudio: Reserva Natural de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco.

En 1971 se estableció una Estación de trabajo de la UNAM en la zona de Chamela-Cuixamala gracias a la donación de 1600 hectáreas de terreno por parte de la familia Urquiza (Estación de biología de Chamela, 2012), para la cual se plantearon tres objetivos primordiales: 1) Realizar y promover la investigación científica sobre la flora, la fauna y los ecosistemas de la región. 2) La difusión del conocimiento generado. 3) La contribución a la conservación del bosque tropical caducifolio del occidente de México (Hernández, 2002). Posteriormente, el 30 de diciembre de 1993 se estableció mediante un decreto presidencial, la Reserva de la Biosfera de Chamela-Cuixmala (RBCC) del estado de Jalisco, y desde entonces se ha garantizado la conservación de las 13,142 hectáreas de selva caducifolia y humedales que conforman la reserva. Además, esto ha permitido la publicación de centenares de artículos científicos relacionados con la composición de la biota de la región y el funcionamiento de los ecosistemas (Hernández, 2002; Estación de biología de Chamela, 2012)

La estación se encuentra en el estado de Jalisco, México, en el municipio de la Huerta (19°30' y 19°33'N y 105°00' y 105°03'O) a 2km dirección oeste de la costa del mar Pacífico. La zona se encuentra limitada, al noreste por el Río San Nicolás y al suroeste por el Río Cuixmala y la altitud de la región varía de entre 30 y 500 msnm en las zonas más altas (Bullock, 1988)



**Figura 5.** Mapa de la región donde se encuentra el sitio de estudio, Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala.

([http://ww2.oikos.unam.mx/CIEco/comunicacion/index.php?option=com\\_content&task=view&id=12&Itemid=192](http://ww2.oikos.unam.mx/CIEco/comunicacion/index.php?option=com_content&task=view&id=12&Itemid=192))

La vegetación de la RBCC consiste principalmente en bosque tropical caducifolio (o selva baja caducifolia) y selva mediana subperennifolia, las cuales cubren el 60% del territorio mexicano (Trejo y Dirzo, 2000) y son características de la zona de la costa del Pacífico (Rzedowski, 1978). Este ecosistema atraviesa grandes extensiones desde el sur de Sonora y el Sureste de Chihuahua hasta Chiapas, y sigue las vertientes de los Ríos Santiago y Balsas hacia la depresión Central de Chiapas y a través del Istmo de Tehuantepec, donde el clima es cálido y árido subhúmedo (Rzedowski, 1978). La vegetación de este tipo de bosque se caracteriza por perder sus hojas durante un periodo de cinco a ocho meses del año y poseer un sólo estrato arbóreo de entre 8 y 12m de altura (Trejo y Dirzo, 2000). El clima de la región es cálido subhúmedo, la temperatura máxima media anual es de 30°C y la mínima es de 19.5°C con un periodo de lluvias entre Julio y Octubre, así como uno de sequía entre noviembre y junio (Pescador-Rubio et al., 2002).

En cuanto a la investigación de la entomofauna de la región de Chamela, se han realizado trabajos taxonómicos, inventarios faunísticos, estudios de diversidad, así como fenología e historia natural de varios grupos de hexápodos (Pescador-Rubio et al., 2002). Particularmente, del orden Hymenoptera hay estudios de la taxonomía y diversidad de algunos géneros de las familias Adrenidae (Snelling, 1987), Anthophoridae (Shanks, 1987) y Megachilidae (Griswold y Michener, 1988). También se han realizado estudios faunísticos de Apoidea (Ayala, 1988), sobre las avispas sociales de la familia Vespidae (Rodríguez-Palafox, 1988) y de algunos grupos de formicidos (Watkins, 1988). Con respecto a miembros de la familia Braconidae, recientemente se han realizado estudios faunísticos de la región para las subfamilias Doryctinae (Zaldívar-Riverón et al., 2010; Gutiérrez-Arellano et al., 2015), Microgastrinae (Fernández-Flores et al., 2013) y Rogadinae (Aguilar-Velasco, 2013).

## 4.2 Riqueza de especies

Para hablar de la riqueza de especies de braconidos en México se realizó una búsqueda bibliográfica para determinar:

- a) Cuáles son las subfamilias de Braconidae con mayor número de especies en el mundo.
- b)Cuál es la diversidad de estas subfamilias en México.
- c) Cuáles de estas subfamilias han sido estudiadas en la región Chamela y con qué resultados.

El número de especies por subfamilia fue obtenido con base en el trabajo de Jones et al., 2009, quienes con base en los trabajos taxonómicos que se han realizado para cada una de las subfamilias, realizaron un estimado del número de especies sin describir para cada una de ellas.

Para hablar de la riqueza de especies de Braconidos de México se revisaron tres trabajos del año 2012: Una revisión de la clasificación de Braconidae y las subfamilias de México (Coronado Blanco et al., 2012), el capítulo de braconidos en el segundo volumen de Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México (Wharton y Mercado, 2012) y la recopilación de trabajos sobre braconidos de México en Yu et al., 2012.

Con base en esto se determinaron cuáles subfamilias son más diversas en México y se realizó la búsqueda de trabajos en la región de Chamela.

## 4.3 Obtención e identificación de ejemplares

Los organismos revisados fueron recolectados en varios puntos de la estación de Chamela en aproximadamente 180 días de trabajo de campo entre los años 2009-2012. Se realizaron salidas tanto en la temporada de lluvia como en secas con el fin de obtener una representatividad adecuada de la diversidad de los grupos de estudio durante el año. Los ejemplares fueron recolectados con los siguientes tipos de trampa: red de golpeo, trampa Malaise, platos amarillos y trampas de luz, para ser preservados en alcohol al 96%.

La identificación morfológica de los géneros de la subfamilia Braconinae se llevó a cabo usando la clave para los géneros del Nuevo Mundo de Quicke (1988). Mientras que

para la identificación de los géneros de la subfamilia Agathidinae se utilizó la clave para los géneros de agatidinos del Nuevo Mundo de Sharkey (2006). Todos los ejemplares de cada género fueron separados por morfoespecies, y en los casos donde fue posible, éstas fueron asignadas a especies ya descritas con la ayuda de claves taxonómicas.

#### **4.4 Obtención de secuencias**

Tanto la extracción de ADN genómico como la amplificación del mismo se realizó en su totalidad en el laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología del Instituto de Biología de la UNAM. La extracción de ADN se realizó usando la resina quelante marca Chelex disuelta en 1ml de agua inyectable, así como 12µl de la enzima proteinasa K. Se usaron 50µl de la mezcla para extraer ADN del tejido de una o dos patas de cada organismo según su tamaño.

Se realizaron amplificaciones de un fragmento de 658 pares de bases del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), correspondiente al locus del código de barras de la vida. La amplificación del fragmento del locus se realizó mediante la técnica de PCR, utilizando un volumen de reacción de 12µl compuesto por 9.475µl de agua inyectable, 1.25µl de Buffer (10x), 0.5µl de MgCl<sub>2</sub> (50mM), 0.25µl de dNTPs (10µM), 0.2µl de los primers LCO y HCO 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'), 0.125µl (5U/µl) de enzima Taq Polimerasa (Platinum Tag DNA Polymerase; Invitrogen), así como 3µl de ADN proveniente de cada extracción.

El programa de las amplificaciones consistió en un ciclo de 1minuto a 94°C seguido de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 48°C y 1 minuto a 72°C, para finalizar con 7 minutos a 72°C y 5 minutos a 4°C. Los productos de PCR sin purificar fueron enviados para su secuenciación a la unidad de genómica de la Universidad de Washington, E.U.A. ([www.htseq.org](http://www.htseq.org)). Las secuencias fueron editadas y alineadas manualmente usando un procesador de texto y el programa Mesquite (Maddison et al., 2008) que permite visualizar las secuencias traducidas a aminoácidos.

#### **4.5 Análisis de Secuencias y delimitación de especies**

La delimitación de especies con base en locus del código de barras de la vida se realizó explorando dos aproximaciones que permiten estimar el grado de divergencia genética usando la información de un solo locus. La primera aproximación usada fue el criterio del 2% de distancia genética para el locus del código de Barras de la Vida (Hebert et al., 2003). Este método es ampliamente usado para delimitar especies en varios grupos animales, incluyendo insectos (Hebert et al., 2003; Hajibabaei et al., 2007). Las distancias genéticas corregidas entre los ejemplares de las dos subfamilias fueron calculadas con el modelo de evolución Kimura 2 parámetros (Kimura, 1980) usando el programa MEGA 5.2.2 (Tamura et al., 2011). La distancia genética entre los taxones se visualizó reconstruyendo un fenograma con el método de Neighbor-Joining.

El modelo de coalescencia General Mixed Yule-Coalescent Model (GMYC) ha tenido éxito en la delimitación de especies de grupos poco estudiados (Fernández-Flores et al., 2013), y es un método más riguroso, el cual, a partir de un árbol ultramétrico empleando un modelo de evolución, genera un umbral que distingue la transición entre los procesos de coalescencia y los de especiación (Monaghan et al., 2009; Fujisawa y Barraclough, 2013). Para esto, se requiere de una topología resuelta con longitud de ramas escaladas en un tiempo relativo, la cual se puede obtener a partir de un análisis Bayesiano. La longitud de las ramas del árbol se estima mediante un reloj molecular relajado, el cual permite que la tasa de evolución varíe de rama en rama, aunque dentro de ciertos parámetros (Baum et al., 2012).

El análisis Bayesiano se realizó usando el programa BEAST 1.8.2 (Drumond et al., 2012), el cual se ejecutó durante 10 millones de generaciones usando un reloj relajado lognormal y un previo coalescente para estimar la longitud de las ramas, así como el modelo de evolución GTR +I+G. Se realizó el muestreo de árboles cada 1000 generaciones y se realizó un burn-in a 5 millones de generaciones siguiendo un punto de vista conservador. Los árboles restantes fueron utilizados para construir un árbol de probabilidades posteriores usando el criterio de máxima credibilidad de clados (maximum credibility clade), y la delimitación de especies GMYC se llevó a cabo usando el paquete de datos SPLITS para el programa R (<http://r-forge.r-project.org/projects/divisiones/>).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Riqueza de especies**

Con base en el trabajo de Jones et al., 2009 se determinó que las subfamilias con mayor diversidad en el mundo son Braconinae con 2788, seguida de Microgastrinae (2037), Alysiinae (1912), Opiinae (1806), Doryctinae (1303), Cheloninae (1223), Euphorinae (1082), Agathidinae (1015) y Rogadinae (680).

Sin embargo, al revisar los trabajos seleccionados para determinar la diversidad de estas subfamilias en México, vemos que no corresponden al valor de diversidad a nivel mundial y que los tres trabajos varían de manera importante en sus resultados (Tabla 19).

**Tabla 8.** Lista del número de géneros y especies asignados a cada una de las 9 subfamilias de bracónidos de México que poseen mayor diversidad a nivel mundial. Se muestran tres publicaciones diferentes del mismo año.

Subfamilia	Coronado-Blanco et al 2012		Wharton y Mercado 2012		Yu et al., 2012	
	Número de géneros	Número de especies	Número de géneros	Número de especies	Número de géneros	Número de especies
Agathidinae	20	112	7	-	15	104
Braconinae	25	77	9	-	12	71
Opiinae	11	54	3	-	7	50
Rogadinae	12	51	7	-	7	50
Doryctinae	63	110	27	-	25	45
Microgastrinae	34	53	23	-	17	44
Euphorinane	30	25	21	-	10	21
Alysiinae	29	20	13	-	10	20
Cheloninae	6	17	6	-	3	11

Se encontraron tres trabajos realizados en la región de Chamela correspondientes a las subfamilias Microgastrinae (Fernández-Flores et al., 2013), Rogadinae (Aguilar-Velasco, 2013) y Doryctinae (Zaldívar-Riverón, 2010), de los cuales se extrajo la cantidad de géneros encontrados, el número de especie y el esfuerzo de colecta (Tabla 9).

**Tabla 9.** Número de géneros y especies de las cinco subfamilias de las que existen estudios faunísticos en la zona de la Estación de Biología de Chamela, Jalisco.

\*Subfamilias incluidas en el presente trabajo.

Subfamilia	Número de géneros	Número de especies	Número de organismos asignados	Esfuerzo de recolecta
------------	----------------------	-----------------------	--------------------------------------	-----------------------

Doryctinae	20	185	468	8 salidas de campo entre junio del 2009 y mayo del 2011. 10 sitios de recolecta en temporada de lluvias y secas. Trampas de luz, Malaise, redes de golpeo y “yellow pan traps” en ambos tipos de vegetación.
Microgastrinae	13	103	569	3 salidas de campo de 6 a 8 días de duración en junio, septiembre y noviembre del 2009. Trampas de luz, Malaise, redes de golpeo y “yellow pan traps” en ambos tipos de vegetación.
Rogadinae	6	27	92	10 salidas de campo de 5 a 10 días de duración entre los años 2009 y 2011. Trampas de luz, Malaise, “yellow pan traps”.
*Braconinae	8	-	55	12 salidas de campo entre junio del 2009 y mayo del 2012. 10 sitios de recolecta en temporada de lluvias y secas. Trampas de luz, Malaise, redes de golpeo y “yellow pan traps” en ambos tipos de vegetación.
*Agathidinae	6	-	208	12 salidas de campo entre junio del 2009 y mayo del 2012. 10 sitios de recolecta en temporada de lluvias y secas. Trampas de luz, Malaise, redes de golpeo y “yellow pan traps” en ambos tipos de vegetación.

## 5.2 Delimitación de especies

De las 104 secuencias obtenidas se realizó una base de datos con fotografías de cada uno de los ejemplares, la cual se encuentra en <http://www.boldsystems.org/> bajo el nombre de AGA y BRN. De los 315 ejemplares encontrados en el material de recolecta se determinaron ocho géneros para la subfamilia Braconinae, de los cuales se delimitaron 27 especies mediante morfología externa, y 31 especies mediante distancias genéticas, en este

caso no fue posible usar el método de GMYC para delimitar especies por la frecuencia con la que se encontraron linajes representados por un solo ejemplar.

Para la subfamilia Agathidinae se determinaron seis géneros, a los cuales se asignaron 17 especies mediante morfología externa, 13 mediante distancias genéticas y 17 con base en el modelo de GMYC.

Tanto la delimitación de especies mediante caracteres morfológicos como moleculares, arrojó un mayor número de especies para la subfamilia Braconinae (27 y 31 respectivamente) de la cual el género con mayor número de especies fue *Bracon* (13 especies mediante morfología externa) mientras que los géneros *Megabracon*, *Vipio*, *Habrobracon* y *Gozmanycomp* estuvieron representados por una sola especie (Tabla 8).

La subfamilia Agathidinae presentó un menor número de especies usando tanto caracteres morfológicos como moleculares (17 mediante morfología, 13 con el 2%CPD y 17 con GMYC), el género con mayor número de especies fue *Alabagrus* con cinco morfoespecies, cuatro especies mediante distancias genéticas y cinco con GMYC. A pesar de que no hubo ningún género representado por un solo ejemplar, los géneros *Zacremnops*, *Creemnops* y *Zamicrodus* se encontraron representados por una sola especie usando los tres métodos de delimitación.

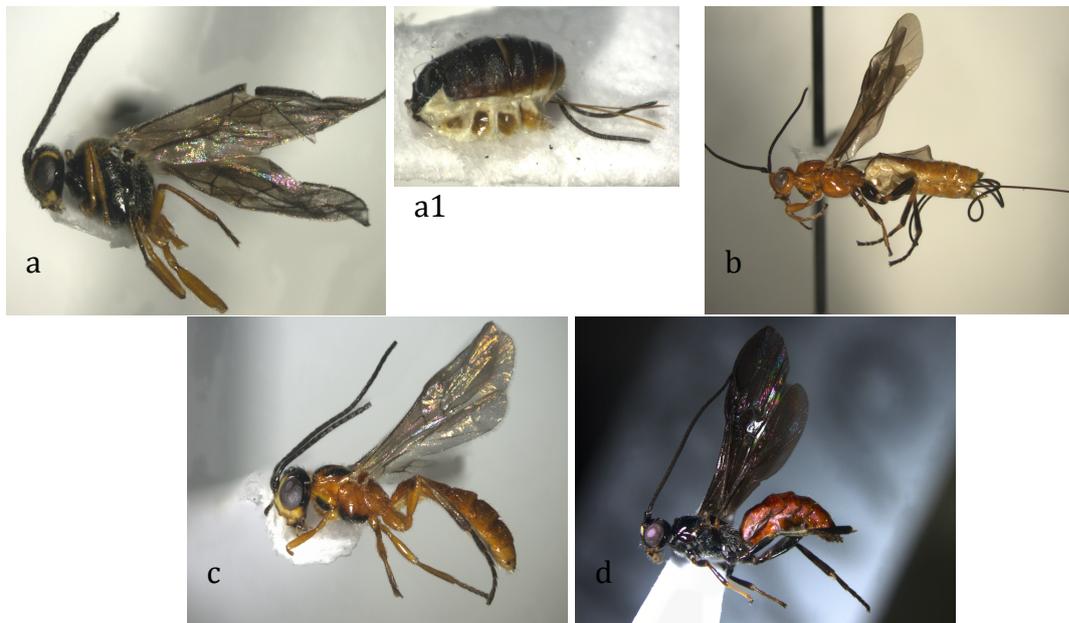
### **5.2.1 Delimitación de especies mediante caracteres morfológicos**

#### **Braconinae**

De esta subfamilia se identificó un total de 58 ejemplares pertenecientes a ocho géneros (Tabla 8), de lo cuales cuatro están representados por un solo ejemplar (Fig. 6). En la mayoría de los casos solo se pudo discriminar en morfoespecies debido a la falta de claves taxonómicas y a la gran confusión que existe en la descripción de muchas de las especies Neotropicales (Quicke, comentario personal).

**Tabla 10.** Número de ejemplares de la subfamilia Braconinae identificados a nivel de género y especie mediante caracteres morfológicos.

Género	Número De individuos	Número de especies
<i>Bracon</i>	39	13
<i>Digonogastra</i>	9	5
Grupo <i>Cyaulax</i>	4	3
<i>Hemibracon</i>	2	2
<i>Gozmanycomp</i>	1	1
<i>Habrobracon</i>	1	1
<i>Megabracon</i>	1	1
<i>Vipio</i>	1	1
8 géneros	58 individuos	27



**Figura 6.** Géneros representados por un sólo ejemplar. a) *Habrobracon* a) metasoma de *Habrobracon*, b) *Megabracon*, c) *Vipio*, d) *Gozmanycomp*

Entre los ejemplares recolectados para Braconinae se encontró uno del género *Gozmanycomp* Papp (Fig. 7), descrito recientemente para la región Neotropical (Papp, 2007). En esta descripción, el autor consideró que por diferencias en caracteres morfológicos, este género se distingue de *Cyaulax*, *Bracon* y *Compsobraconoides*. La única especie descrita de este género fue recolectada en Bolivia y en Brasil, por lo que éste representa un registro nuevo para México



**Figura 7.** *Gozmanycomp* Papp (Braconidae: Braconinae)

Las especies identificadas como *Cycaulax* y *Compsobraconoides* fueron todas consideradas dentro *Cycaulax*, ya que los individuos de estos géneros presentan características morfológicas muy similares y su taxonomía no se encuentra bien comprendida (Quicke, comentario personal).

### **Agathidinae**

Para esta subfamilia se encontraron 257 ejemplares pertenecientes a seis géneros (Tabla 9), de los cuales tres están representados por un solo ejemplar (Fig. 8). La mayoría de éstos se determinaron a nivel de especie usando las claves dicotómicas existentes (Marsh, 1961; Sharkey, 1990, Leathers y Sharkey, 2003; Sarmiento, 2006) (Tabla 10).

**Tabla 11.** Número de ejemplares de la subfamilia Agathidinae identificados a nivel de género y especie mediante caracteres morfológicos.

<b>Género</b>	<b>Número de individuos</b>	<b>Número de especies</b>
<i>Bassus</i>	14	5
<i>Alabagrus</i>	85	5
<i>Zelomorpha</i>	122	3
<i>Cremnops</i>	3	1
<i>Zacremnops</i>	30	1
<i>Zamicrodus</i>	3	1
6 géneros	257 individuos	16



**Figura 8.** Géneros de agatidinos representados por una sola especie: a) *Zacremnops*, b) *Cremnops* y c) *Zamicrodus*

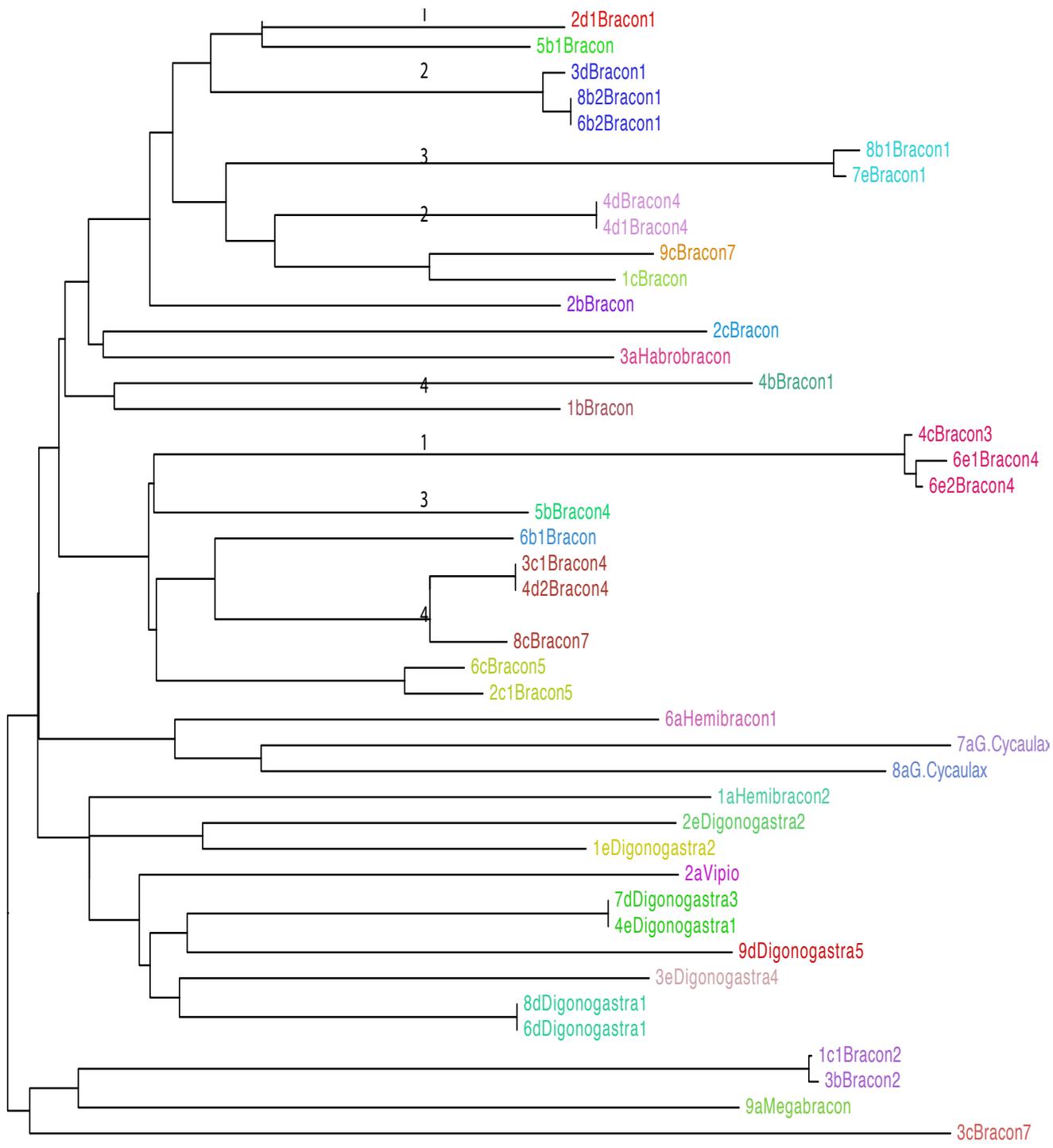
**Tabla 12.** Especies del género Agathidinae.

<b>Género</b>	<b>Especie</b>
<i>Zelomoprha</i>	<i>lenisterna</i>
	<i>arizonensis</i>
	<i>bejaranoi</i>
<i>Alabagrus</i>	<i>ixtilton</i>
	<i>ekchuah</i>
	<i>maculipes</i>
	<i>voto</i>
	<i>tripartitus</i>
<i>Zacremnops</i>	<i>cressoni</i> Cameron
<i>Cremnops</i>	<i>slossonae</i>
<i>Bassus</i>	5 morfoespecies
<i>Zamicrodus</i>	1 morfoespecie

### 5.2.2 Delimitación de especies mediante caracteres moleculares

## **Braconinae**

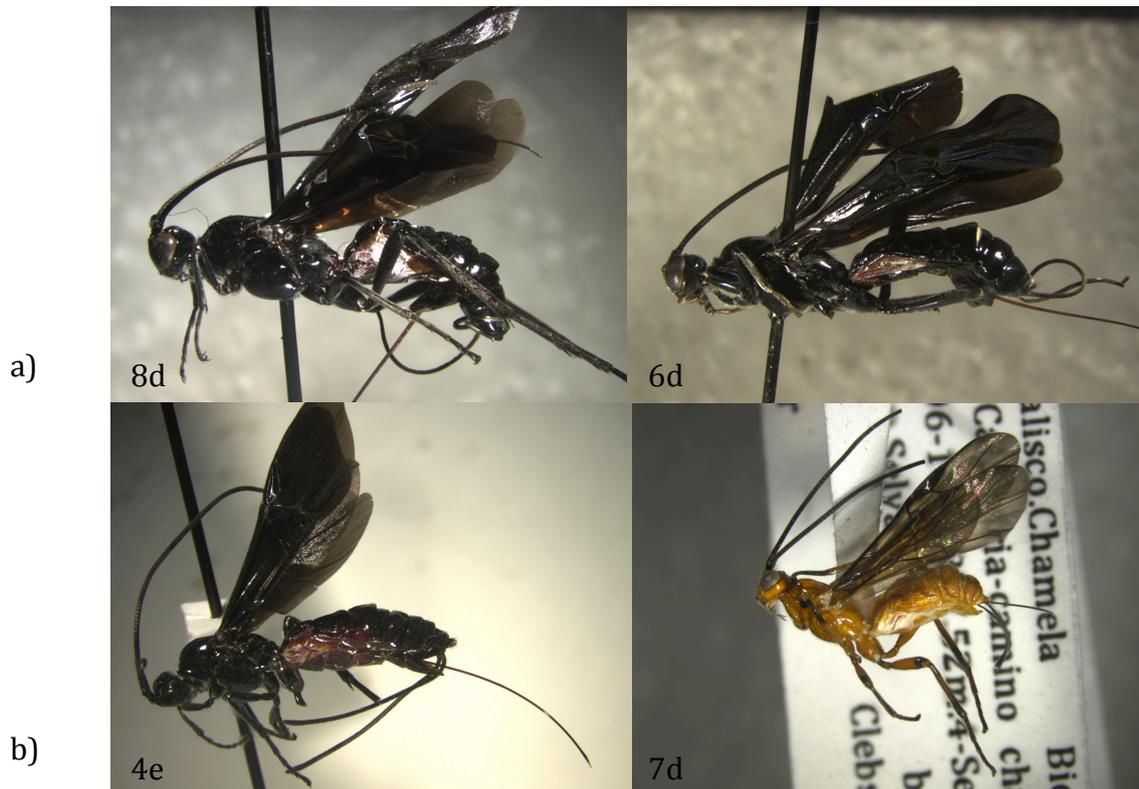
De las 27 especies determinadas mediante caracteres morfológicos, se obtuvo un total de 44 secuencias pertenecientes a la mayoría de los ejemplares. Al analizar estas secuencias usando el criterio corregido del 2% de divergencia genética, se generó un árbol de NJ con un total de 31 linajes independientes (Fig. 9). En el caso del modelo de GMYC no fue posible obtener resultados por que la mayoría de las especies están representadas por un solo ejemplar (Tabla 13).



**Figura 9.** Árbol de distancias para el gen COI reconstruido con el método de NJ de ejemplares de la subfamilia Braconinae de la estación de Biología de Chamela, Jalisco. Los números en las ramas corresponden al número de clado en que fue separada esa morfoespecie.

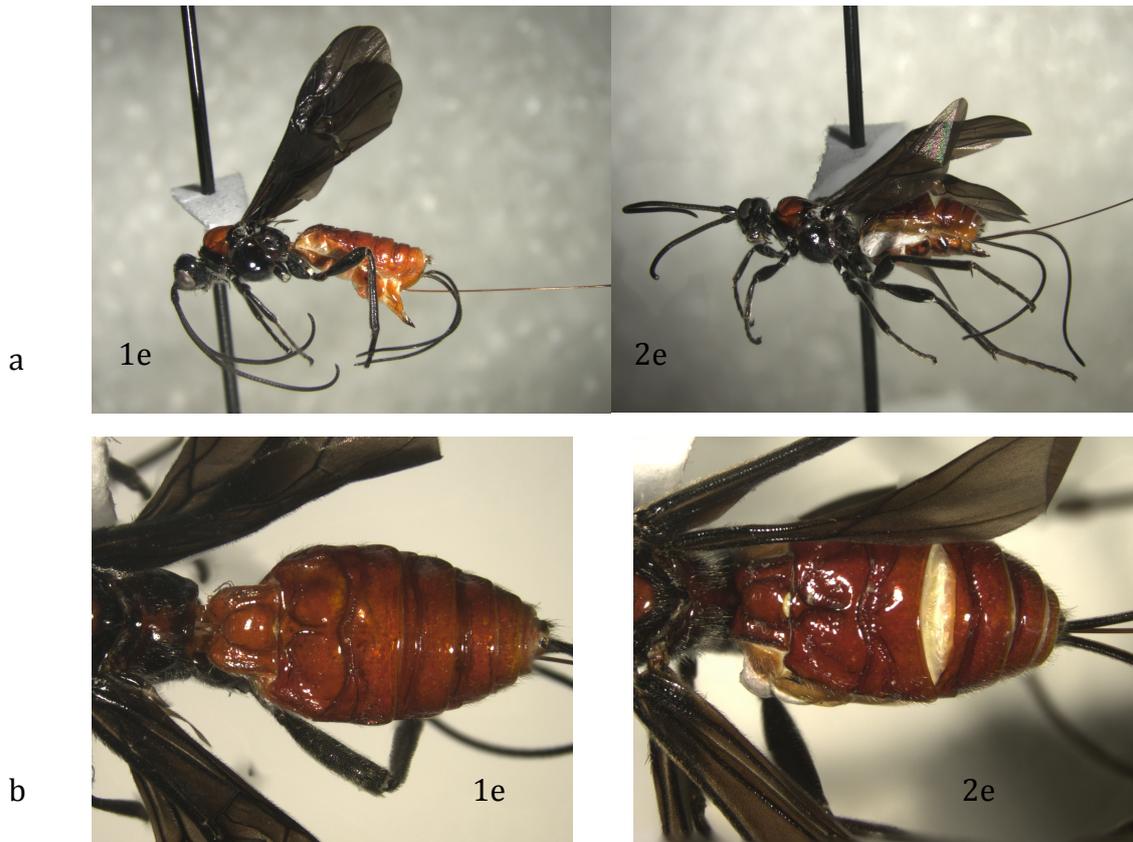


**Figura 10.** Fragmento del árbol de NJ en el que aparecen los dos grupos en los que se distribuye la morfoespecie 1.



**Figura 11.** a) Grupo 1. Ejemplares 8d y 6d de la morfoespecie 1. b) Grupo 2. ejemplar 4e morfoespecie 1 y 7d morfoespecie 3.

La morfoespecie 2 de este mismo género, fue separada en el árbol de NJ en dos grupos con un ejemplar cada uno (2e y 1e) con una diferencia genética de 11.2% (Tabla 14). Una revisión posterior de los caracteres morfológicos revela diferencias importantes en la esculpación de los terguitos 1, 2 y 3. Por lo que se decide reconocer dos especies en lugar de una.



**Figura 12.** a) Ejemplares 1e y 2e del género *Digonogastra* sp. 1. b) Metasoma de ambos ejemplares.

**Tabla 14.** Distancias genéticas correspondientes a las especies del género *Digonogastra* que presentaron incongruencias.

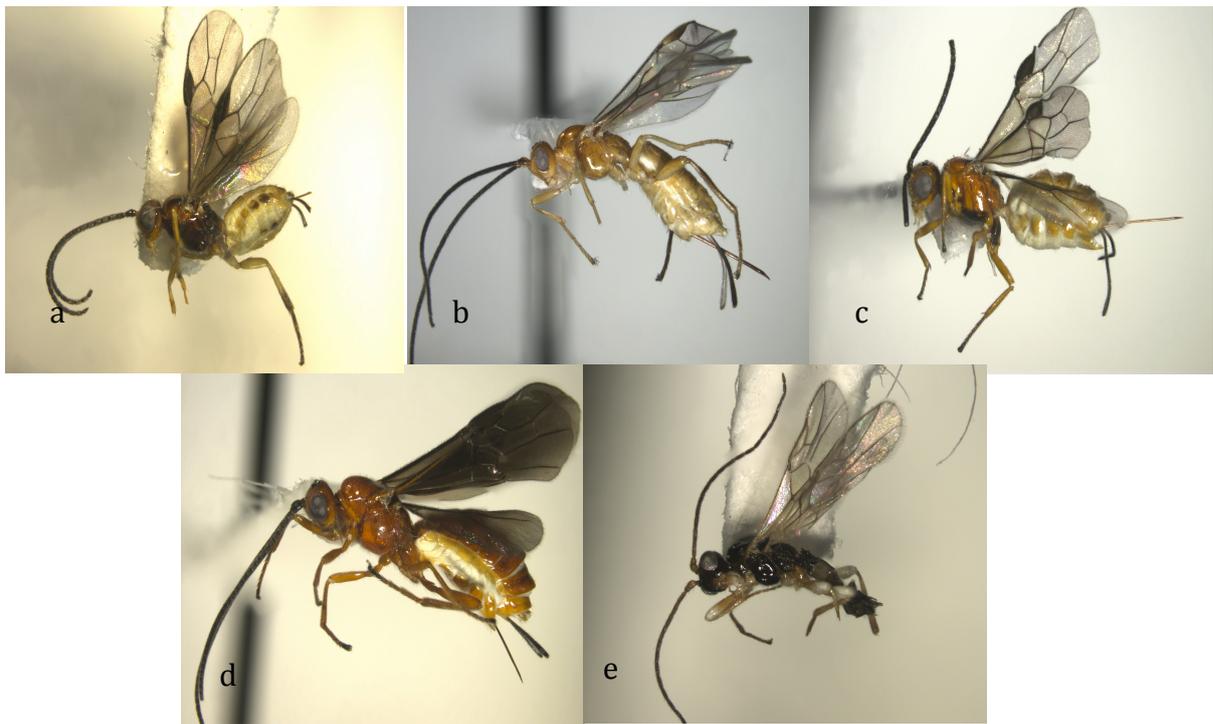
	2e	1e	8d	6d	4e	7d	9d
2e	-						
1e	11.2%	-					
8d	14.5%	12%	-				
6d	14.5%	12%	0%	-			
4e	14.7%	12.6%	10.5%	10.5%	-		
7d	14.7%	12.6%	10.5%	10.5%	0%	-	
9d	17.5%	14.5%	12.6%	12.6%	12.6%	12.6%	-

En total se recuperan seis especies del género *Digonogastra*: una especie con base en la morfoespecie 1 (tres ejemplares), dos especies con base en la morfoespecie 2 (un ejemplar por especie), una especie con base en la morfoespecie 3 (un ejemplar), una

especie con base en la morfoespecie 4 (un ejemplar) y una especie con base en la morfoespecie 5 (un ejemplar).

### *Bracon* Fabricius

En cuanto al género *Bracon*, se encontraron muy pocos casos en los que la evidencia morfológica concordara con la evidencia molecular. De las 13 especies determinadas mediante morfología se obtuvieron 29 secuencias, las cuales fueron discriminadas mediante el criterio de 2% de distancia genética en 18 especies, de las cuales 11 están representadas por un solo ejemplar (Fig. 13)



**Figura 13.** Ejemplares representativos del género *Bracon*. a) Morfoespecie 1. b) Morfoespecie 2. c) Morfoespecie 4. d) Morfoespecie 5. e) Morfoespecie 7.

La especie 1 delimitada por morfología quedó dividida en cuatro grupos, los cuales presentan valores de distancia genética mayores al 2% (Tabla 13). El representante de la morfoespecie 3 se recuperó en el grupo 1 de los cuatro en los que fue dividida la morfoespecie 4, con los cuales posee un 0.5% de distancia genética (Tabla 14). La especie 4 fue dividida en cuatro grupos, el grupo 1 con un representante de la especie 3 y el grupo

4 con un representante de las especie 7, en ambos casos la distancia genética interespecífica fue menor o igual al 2% (Tabla 14).

La morfoespecie 7 se recuperó en 3 grupos separados (Tabla 15). Al comparar los valores de distancia genética, todos resultaron mayores al 2%. Uno de estos ejemplares (8c) se recuperó en uno de los clados correspondientes a la especie 4, con los cuales presenta una distancia genética del 2.1%.

Debido a que no hay una revisión de caracteres morfológicos para determinar especies de este género, se usó el criterio del 2% de distancia genética como principal evidencia para la delimitación de especies, de ésta manera, se recuperan 18 linajes independientes para este género.

**Tabla 15.** Distancias genéticas entre los diferentes clados arrojados por el árbol de NJ correspondientes a la morfoespecie *Bracon* sp. 1 determinada con morfología.

	1	2	3	4
1	-	-		
2	9.0-9.4%	0.0-0.6%	-	
3	13.9-14.2%	13.0-13.3%	0.5%	
4	15.9%	15.3-16.1%	18.1-18.5%	-

**Tabla 16.** Distancias genéticas entre los diferentes clados arrojados por el árbol de NJ correspondientes a la morfoespecie *Bracon* sp. 4 determinada con morfología.

	1	2	3	4
1	0.5%	-		
2	18.2-18.7%	0.0%	-	
3	14.8-15.2%	11.4%	-	
4	14.2-19.0%	12.2-16.9%	9.8-13.9%	0.0-2.1%

**Tabla 15.** Distancias genéticas entre los diferentes clados arrojados por el árbol de NJ correspondientes a la morfoespecie *Bracon* sp. 7 determinada con morfología.

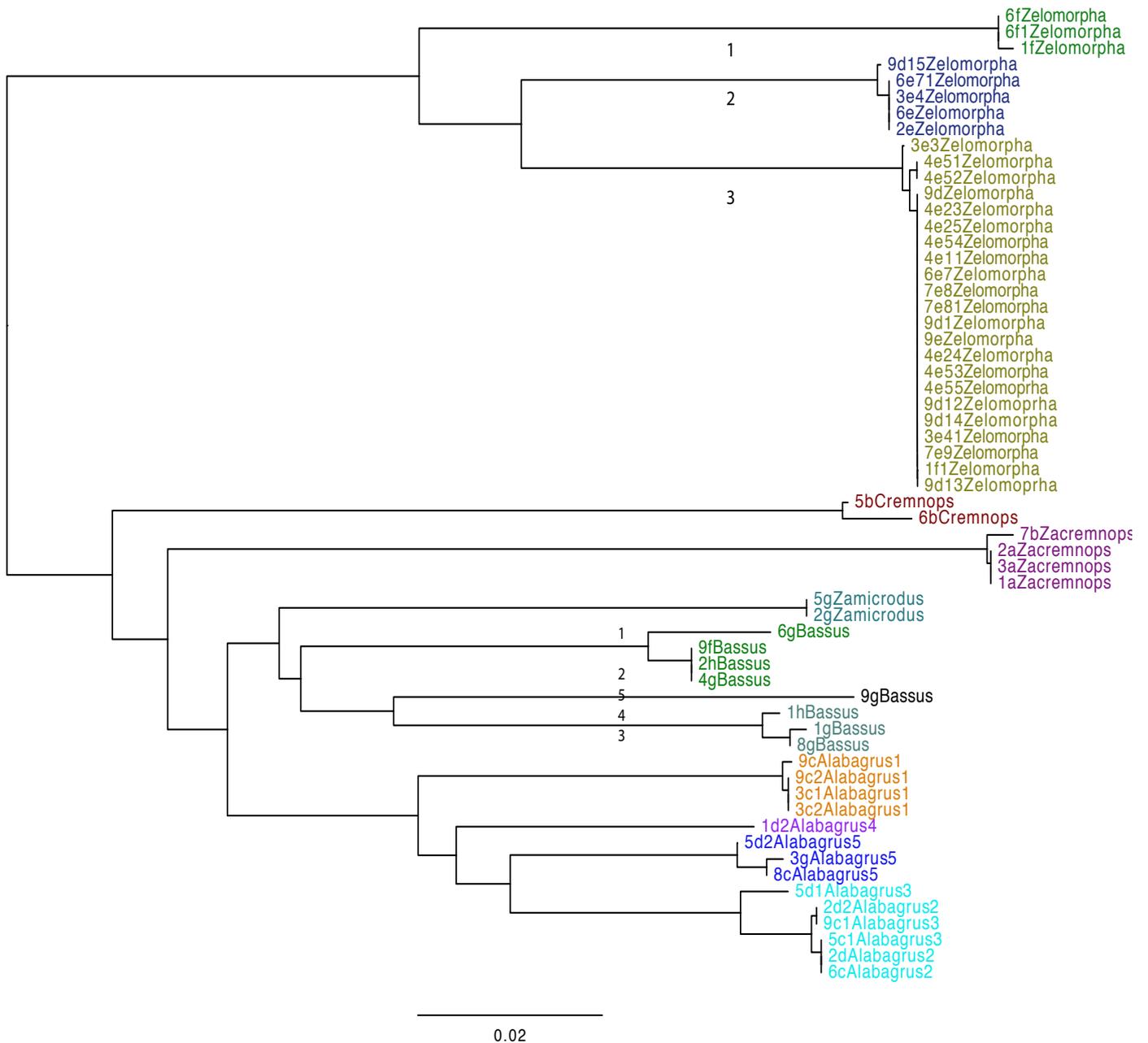
	9c	8c	3c
9c	-		

8c	14.7%	-	
3c	22.8%	17.1%	-

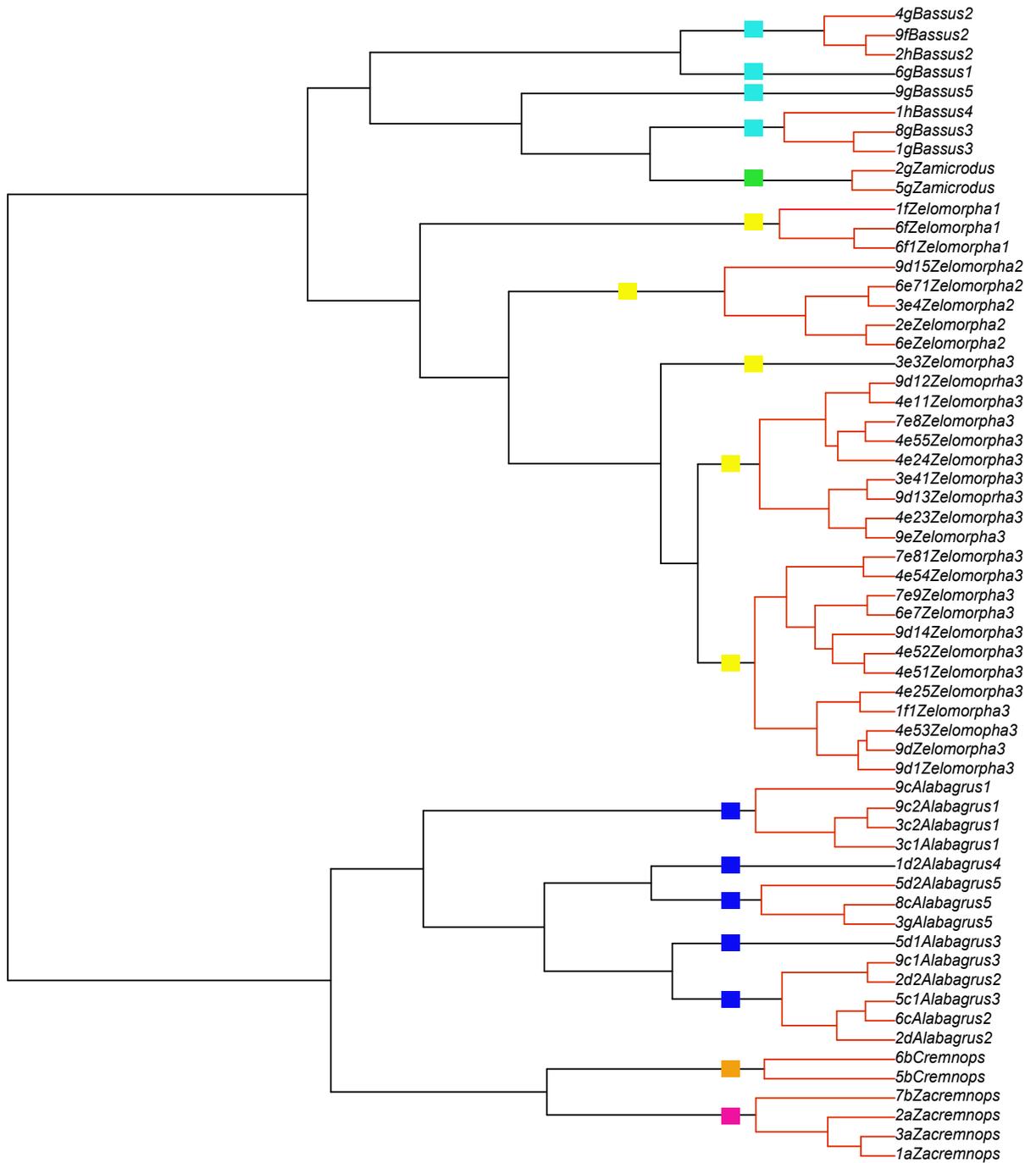
### Agathidinae

De esta subfamilia se tomó en cuenta la determinación morfológica con claves dicotómicas excepto en el caso de los géneros *Bassus* y *Zamicrodus*, los cuales fueron separados en morfoespecies. De las 16 especies obtenidas mediante caracteres morfológicos, se recuperaron 60 secuencias del gen COI correspondientes a los ejemplares representativos de cada especie. Usando el criterio del 2% de distancias genéticas corregidas se obtuvo un total de 13 especies (Fig. 14), mientras que el método del GMYC arrojó un total de 17 especies (Fig. 15).

De los géneros, *Zacremnops*, *Cremnops* y *Zamicrodus* se encontró una sola especie representada por al menos tres ejemplares (Fig. 16) mientras que los géneros *Alabagrus*, *Zelomorpha* y *Bassus* presentaron incongruencias entre los tres métodos de delimitación (Tabla 16).



**Figura 14.** Árbol de distancias genéticas para el gen COI, reconstruido mediante el método de NJ de ejemplares de la subfamilia Agathidinae de la estación biológica de Chamela Jalisco.



**Figura 15.** Árbol ultramétrico de las especies de la subfamilia Agathidinae en donde se muestran las especies obtenidas con el método de GMYC. Cada cuadro representa una especie y cada color representa un género.

**Tabla 17.** Numero de especies por género obtenidas mediante morfología, el criterio del 2% de distancias corregidas y el modelo GMYC.

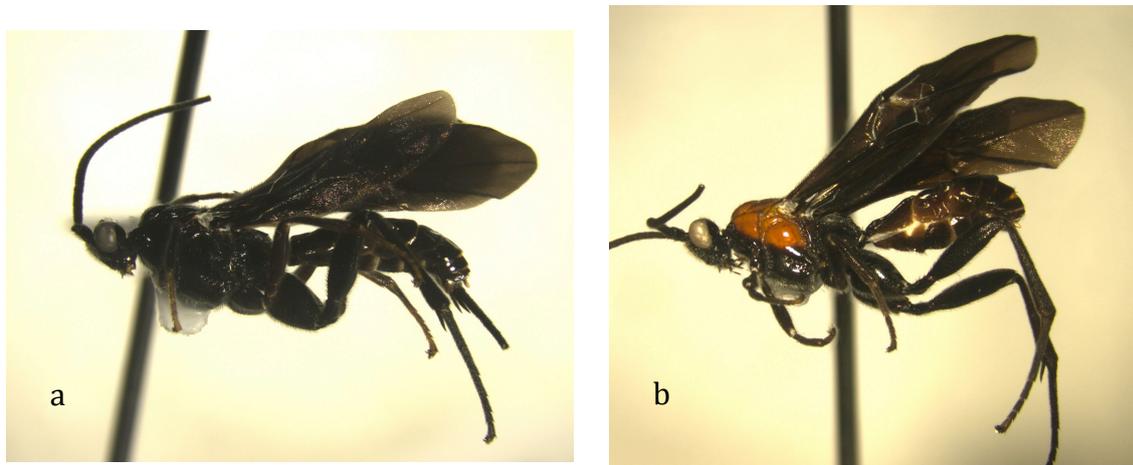
Género	Morfología	2%CPD	GMYC
<i>Alabagrus</i>	5	4	5
<i>Zelomorpha</i>	3	3	5
<i>Bassus</i>	5	3	4
<i>Creznops</i>	1	1	1
<i>Zacremnops</i>	1	1	1
<i>Zamicrodus</i>	1	1	1
Total	17	13	17



**Figura 16.** Géneros de Agathidinae representados por una sola especie: a) *Zacremnops*, b) *Creznops* y c) *Zamicrodus*.

*Alabagrus* Enderlein

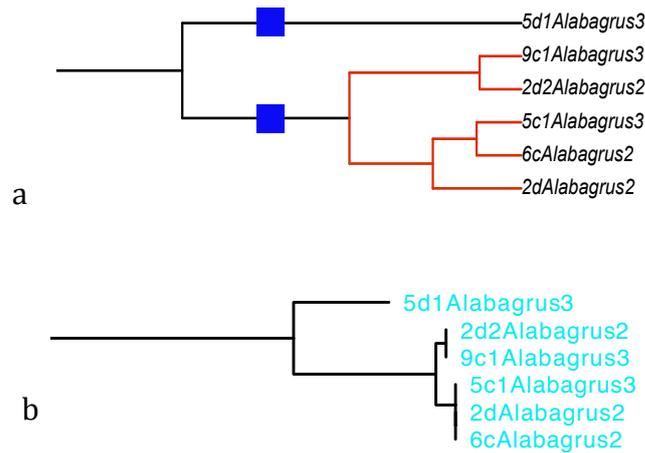
Se encontraron incongruencias en la determinación de las morfoespecies 2 y 3, de las cuales se secuenciaron seis ejemplares, tres por morfoespecie. Estas fueron relacionadas con las especies *A. ixtilton* y *A. ekchuah* respectivamente (Fig. 17) con base en la clave de Leathers et al., 2003 en donde mencionan tres caracteres distintivos relacionados con la forma de la gena, el número de flagelos de las antenas y la textura del metapleuron. Sin embargo con base en el criterio de distancias genéticas, todos estos ejemplares se recuperaron como una sola unidad evolutiva con menos del 2% de diferencias (Tabla 17), mientras que el modelo de GMYC discriminó solo un ejemplar de *A.ekchuah* como un linaje independiente (Fig. 18).



**Figura 17.** a) Morfoespecie 2, *A. Ixtilton*. b) Morfoespecie 3, *A. ekchuah*.

**Tabla 18.** Distancias genéticas de las especies del género *Alabagrus* que presentan incongruencias.

	<i>A. ekchuah</i>	<i>A. ixtilton</i>
<i>A. ekchuah</i>	1.5-2.0%	-
<i>A. ixtilton</i>	0.2-1.5%	0-0.2%

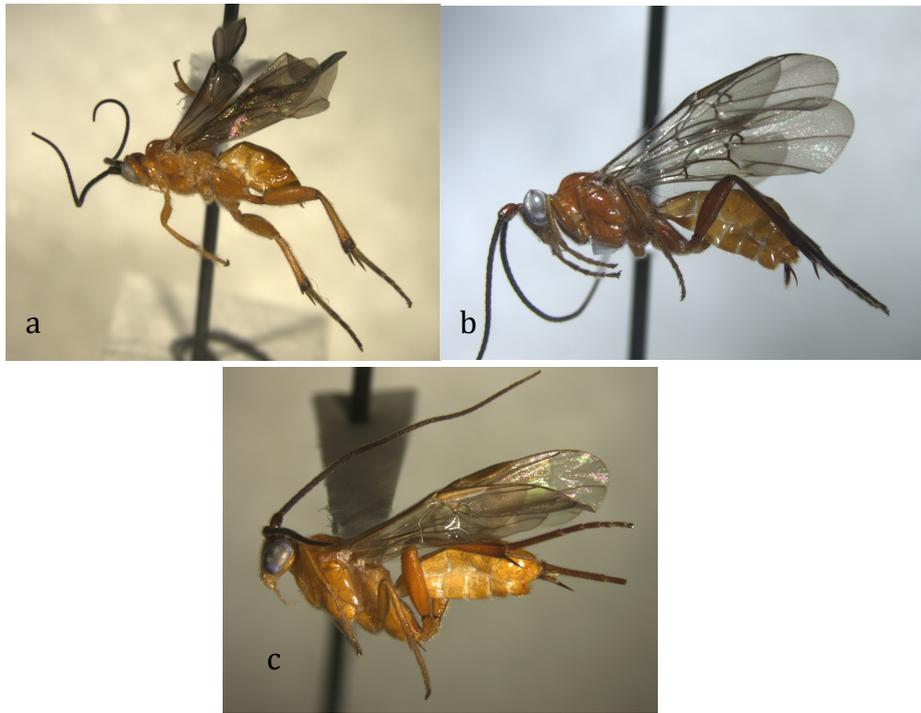


**Figura 18.** La morfoespecie *Alabagrus* sp. 3 corresponde a *A.ekchuah* y la morfoespecie 2 a *A.ixtilton*. a) fragmento del árbol ultramétrico correspondiente a las morfoespecies de *Alabagrus* sp. 2 y 3. b) el mismo fragmento en el árbol de NJ.

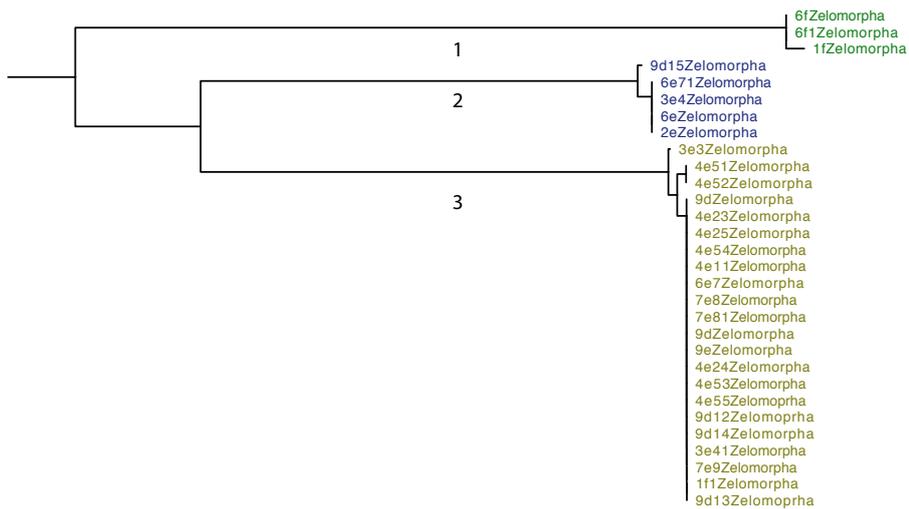
Con base en la evidencia molecular y la revisión de la descripción original de las especies, se consideró a estas dos morfoespecies como un solo linaje evolutivo, por lo que se recuperan un total de cuatro especies de este género.

### *Zelomorpha*

En cuanto al género *Zelomorpha*, la delimitación mediante caracteres morfológicos permitió determinar tres especies: *Z. bejaranoi*, *Z. arizonensis* y *Z. lenisterna* (Fig. 19). Esto coincide parcialmente con el árbol obtenido mediante NJ (Fig. 20), en el que *Z. bejaranoi* aparece claramente en un grupo independiente con tres ejemplares y 2.0% de distancia genética intraespecífica (grupo 1), mientras que los grupos 2 y 3 separan parcialmente a los ejemplares previamente delimitados mediante caracteres morfológicos como *Z.arizonensis* y *Z.lenisterna* con una distancia genética intraespecífica de entre 0 y 2.0% en ambos casos.

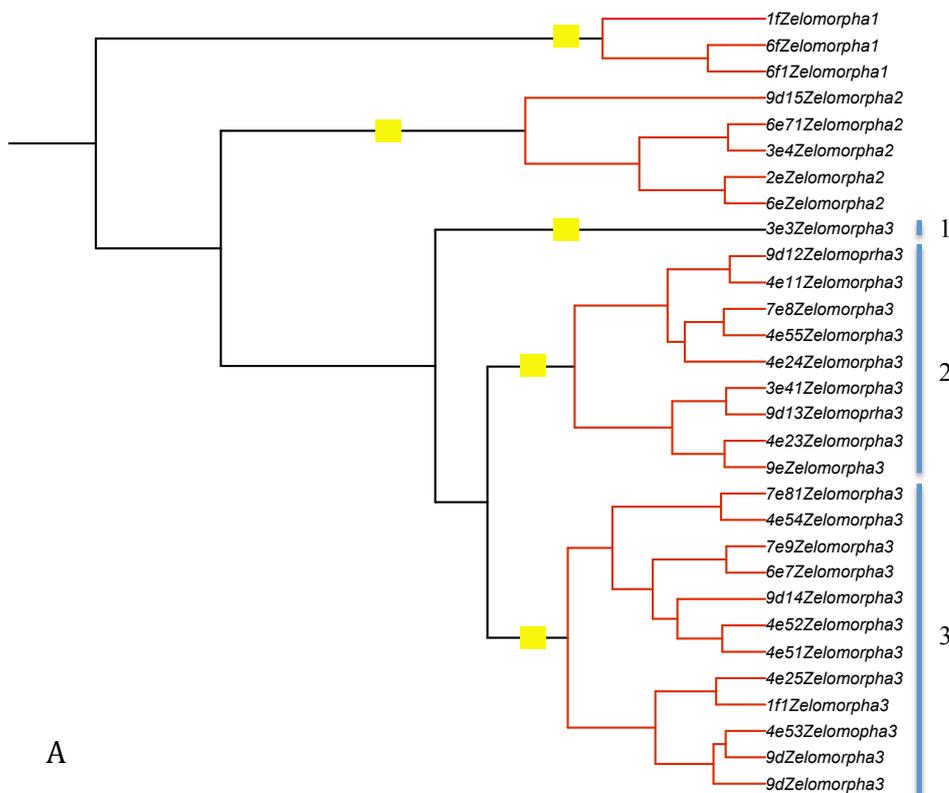


**Figura 19.** *Z. bejaranoi*, b) *Z. lenisterna*, c) *Z. arizonensis*.



**Figura 20.** Fragmento del árbol de NJ correspondiente a las tres morfoespecies del género *Zelomorpha*. 1) *Z. bejaranoi*. 2) *Z. lenisterna*. 3) *Z. arizonensis*.

En el caso de la delimitación de especies mediante el modelo de GMYC, se recuperaron el grupo 1 y el grupo 2 compuestos por los mismos ejemplares que en el árbol de NJ sin embargo, el grupo 3 se recuperó dividido en tres linajes independientes (Fig. 21).



A

**Figura 21.** Fragmento del árbol ultramétrico correspondiente al género *Zelomorpha*. Las líneas azules denotan los tres grupos en los que el modelo de GMYC separó el tercer grupo del árbol de NJ.

Dada la información morfológica y molecular, se mantiene el grupo 1 como *Z. bejaranoi*, el grupo 2 como *Z. acuta* y del grupo 3 del árbol de NJ se derivan *Z. lenisterna*, *Z. oxybela* y *Z. arizonensis*, dando como resultado un total de cinco especies para el género *Zelomorpha*.

### *Bassus* Fabricius

En el caso de *Bassus*, las morfoespecies 1 y 2 fueron delimitadas como una sola mediante el criterio del 2%, así como las especies 3 y 4. La distancia genética entre las especies 1 y 2 fue muy cercana al 2%, mientras que la distancia entre las especies 3 y 4 fue mucho menor al 2% (Tabla 18). La única incongruencia encontrada entre ambas aproximaciones a la delimitación mediante caracteres moleculares fue en el caso de las morfoespecies 1 y 2, las cuales se recuperaron como dos entidades evolutivas en el árbol ultramétrico.

Dada la información molecular se decide tomar como un solo linaje evolutivo a las morfoespecies 1 y 2 (*Bassus* sp.1), 3 y 4 (*Bassus* sp.2), por lo que junto con *Bassus* sp.3 en se recuperaron 3 especies del género *Bassus* (Fig. 22)



**Figura 22.** a) *Bassus* sp.1 b) *Bassus* sp.2 c) *Bassus* sp.3

**Tabla 19** Distancias genéticas correspondientes a las morfoespecies de *Bassus* que presentaron incongruencias.

	Morfoespecie 1	Morfoespecie 2
Morfoespecie 1	-	-
Morfoespecie 2	1.8%	0%
	Morfoespecie 4	Morfoespecie 3
Morfoespecie 4	-	-
Morfoespecie 3	0.5-0.6%	0.2%

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Riqueza de especies

Braconinae es una de las subfamilias más diversas de braconídeos, aunque hasta el momento se ha registrado una mayor riqueza de especies en Eurasia y África, los géneros de América varían considerablemente de aquellos, y se necesita profundizar en estudios taxonómicos para poder delimitarlos con mayor precisión y determinar las causas de este fenómeno (Quicke, 2014).

Jones (2009) menciona que esta subfamilia posee el mayor número de especies registradas en el mundo, aunque se estima que el número de especies por identificar en la mayoría de las subfamilias más diversas del planeta, dobla el número de las que ya se conocen (Jones et al., 2009). Lamentablemente existen pocos trabajos en los que se recapitule la diversidad de estas subfamilias en México, y en aquellos que lo hacen hay una discrepancia importante en el número de géneros y especies que se les asignan (Coronado-Blanco et al., 2012; Wharton y Mercado, 2012; Yu et al., 2012). Considerando el grado de actualización de los trabajos, se tomó en cuenta el listado proporcionado por Yu et al., 2012 para comparar el número de especies entre las subfamilias del grupo.

Considerando este listado, en México la subfamilia con mayor registro de especies es Agathidinae, seguida de Braconinae, Opiinae y Rogadinae, Doryctinae, Migrogastrinae, Euphorinae, Alysinae y Cheloninae (Yu et al., 2012). En Chamela se han realizado estudios de diversidad de tres de estas subfamilias: Doryctinae (Zaldívar-Riverón et al., 2010), Migrogastrinae (Fernández-Flores et al., 2013) y Rogadinae (Aguilar-Velasco, 2013). Dados los datos de las recolectas de estos estudios, es evidente que la diversidad de avispas en Chamela de las subfamilias Agathidinae y Braconidae es mucho menor que la de Migrogastrinae y Doryctinae, pero similar a la que presentan los rogadoinos, a pesar de que a nivel mundial la subfamilia Braconinae es la más diversa.

El esfuerzo de recolecta en el caso de las cinco familias mencionadas arriba fue similar; se abarcó tanto el día y la noche, así como diversas técnicas de recolecta tanto en

la temporada de lluvias como en la de secas, por lo que se consideró que el fenómeno en la diferencia del número de especímenes recolectados y géneros representados, debe tener un origen alternativo al de la falta de muestreo. El conocimiento que se tiene sobre la biología y hábitos de las avispas parasitoides tanto de Chamela como de otras partes del mundo, permite generar algunas hipótesis con respecto a las diferencias de diversidad entre las subfamilias:

La diversidad de especies de dorictinos en América es aparentemente mucho mayor a aquellas que se han encontrado en otros continentes (Hanson y Gauld, 2006). Esta alta diversidad de la subfamilia Doryctinae en el Neotrópico puede estar relacionada con el probable origen del grupo en esta región durante el Paleoceno tardío y el Eoceno temprano (Zaldívar-Riverón et al., 2008) y su posterior dispersión a Eurasia y África. Esto sugiere una situación similar, pero inversa en el caso de braconinos, ya que poseen una biología muy parecida a Doryctinae pero son originarios de la región Paleártica y por lo tanto más abundantes y diversos en esa área, al grado de que representan la subfamilia más diversa a nivel mundial (Jones et al., 2009 y Quicke, 2014).

Los Microgastrinos poseen una biología limitada casi por completo al orden Lepidoptera (Shi et al., 2005). No obstante, éste es un orden altamente diverso. Particularmente, en Chamela las familias de lepidópteros con especies registradas representan el 43% de las familias conocidas en Norteamérica (Pescador-Rubio et al., 2002). Esta alta diversidad de huéspedes puede dar razón de la alta diversidad y abundancia de microgastrinos en zonas como Chamela, ya que además poseen una distribución muy amplia en todo tipo de climas (Wharton et al., 1998; Hanson y Gauld, 2006).

En el caso de Agathidinae, existen situaciones interesantes como la restricción del género *Zelomorpha* a las especies de América debido a importantes diferencias morfológicas con aquellas de Eurasia y África (Sharkey et al., 2006b), lo cual puede significar que el grupo está comenzando a especiarse en esta área. Esta divergencia podría verse reflejada al comparar secuencias genéticas de ejemplares de ambas áreas, como la correspondiente al código de barras de la vida, ya que es una región con una tasa de evolución rápida que permite diagnosticar linajes con una corta historia de aislamiento reproductiva (Hebert et al., 2003).

La diferencia de diversidad entre dorictinos y agatidinos en Chamela puede estar relacionada de manera más estrecha con la preferencia de estos últimos por hábitats más húmedos que los que hay en la región de Chamela, así como por una mayor restricción en la elección de los huéspedes, lo cual implica que la diversidad de agatidinos depende de la diversidad de huéspedes presentes en el ecosistema (Sharkey en Wharton et al., 1998; Hanson y Gauld, 2006). Dado que los agatidinos parasitan casi exclusivamente larvas de lepidópteros diurnos, y que este es un orden particularmente diverso en Chamela, es posible que sean muy específicos en su elección, y que el grupo de lepidópteros que parasitan no sea tan diverso. Algo similar sucede con los rogadinos, ya que estos se especializan en un grupo particular de lepidóptero nocturno y además son de tamaño pequeño y hábitos nocturnos, lo cual pudiera generar un sesgo en la recolecta (Shaw en Wharton et al., 1998; Hanson y Gauld, 2006; Aguilar-Velasco, 2013).

En cuanto a las relaciones filogenéticas de los grupos, Doryctinae y Braconinae se recuperan como grupos hermanos, y Rogadinae como el grupo hermano de Doryctinae + Braconinae, por lo que estos tres componen un clado dentro del grupo de los ciclóstomos. En cambio, Agathidinae se recupera como grupo hermano de Sigalphinae, y Microgastrinae como grupo hermano de Cardiochilinae en el conjunto de los no ciclóstomos (Shi et al., 2005).

Es importante resaltar que las avispas parasitoides poseen una gran cantidad de estrategias de vida y hábitos que aún no han sido estudiados a profundidad, y que se han realizado pocos trabajos en cuanto a su taxonomía, relaciones filogenéticas y diversidad en el América. Esto influye de manera importante en la dificultad de encontrar patrones relacionados con su biogeografía o distribución, los cuales podrían contribuir a explicar las diferencias encontradas en la diversidad de los grupos y cómo esta se relaciona con su historia evolutiva.

## **6.2 Delimitación de especies**

El principal objetivo de la sistemática es comprender las causas y el origen de la biodiversidad en el planeta, para lo cual se delimitan unidades evolutivas conocidas como especies (Fujita et al., 2012). Sin embargo, nombrar a todas las especies es tarea ambiciosa que se dificulta por la pérdida rápida de la biodiversidad en las últimas décadas y por la

falta de taxónomos y expertos en grupos megadiversos (Paknia, 2015). Debido a esto, es importante establecer un sistema taxonómico robusto que permita identificar de manera rápida y eficiente, los linajes con evolución independiente, por lo que actualmente se aplican y comparan diversos sistemas de caracteres bajo el concepto de taxonomía integradora (Padial, 2010).

El uso de caracteres moleculares para la delimitación de especies usando el código de barras de la vida ha sido muy criticado (Will et al., 2005 y Hendrich et al., 2010). Sin embargo, en combinación con otros sistemas de delimitación tradicionales tales como los caracteres morfológicos, ha demostrado ser una fuente de evidencia taxonómica muy importante (Pons et al., 2006) particularmente en grupos megadiversos como Hymenoptera.

Una de las principales restricciones a la delimitación de especies mediante caracteres moleculares consiste en la elección de un método para procesar la información obtenida por las secuencias genéticas, ya que cada uno asume distintos parámetros de análisis, por lo que los resultados son variables. En este trabajo se utilizaron dos aproximaciones a esto: el criterio de 2% de distancias genéticas corregidas y el modelo de GMYC.

En el primer caso, se utilizó un método de cálculo de distancias genéticas corregidas mediante un modelo de evolución, el cual asume que hay una diferencia entre la tasa de sustitución entre transiciones y transversiones; a partir de las distancias genéticas obtenidas se asume que las secuencias que presenten una diferencia nucleotídica mayor al 2% constituyen linajes evolutivos independientes, lo cual ha resultado rápido, eficiente y exitoso en animales (Hebert, 2003). En cambio, el método de GMYC es mucho más complejo y puede resultar más apropiado que el método anterior. Sin embargo este modelo discrimina especies con base en un umbral que permite distinguir procesos de especiación y de coalescencia, por lo que existe un mayor número de factores que pueden reducir la confiabilidad de los resultados, entre ellos la existencia de un alto número de especies representadas por un solo ejemplar, en este caso el modelo funciona bien con un mínimo de 3 ejemplares por especie, pero su confiabilidad aumenta si se tienen al menos 10; a su vez, una alta cantidad de secuencias iguales también merma el resultado del modelo (Fujisawa y Barraclough, 2013).

## **Delimitación de especies**

### **Braconinae**

En el caso de las subfamilias relevantes para este trabajo, Braconinae se encuentra muy poco estudiada taxonómicamente a nivel de especie, por lo que las claves existentes sólo permiten llegar de manera concluyente al nivel de género. Debido a esto y a la baja representatividad de especies por género, así como de ejemplares por especie, resulta imposible discutir la variación morfológica intraespecífica de la mayoría de ellos, únicamente en el caso de los géneros *Digonogastra* y *Bracon* se encontró más de un ejemplar por especie, lo cual se ve reflejado en el árbol de NJ y en el hecho de que fue imposible generar un árbol mediante el modelo de GMYC. En el caso de los géneros *Habrobracon*, *Megabracon*, *Vipio* y *Gozmanycomp* únicamente se encontró un ejemplar.

Como se menciona antes, Braconinae es una subfamilia poco diversa en el Neotrópico, siendo *Bracon* y *Digonogastra* los géneros mejor representados en recolectas y colecciones (Quicke, 2015). A pesar de lo cual es posible que exista un mayor número de géneros de esta subfamilia en la zona de Chamela, y que debido a su poca abundancia y hábitos desconocidos, sea necesario un número de recolectas anuales mayor y en distintas localidades para encontrar nuevos registros como el del género *Gozmanycomp*, el cual posee una distribución más amplia de lo que se había considerado. También es necesario aumentar el número de ejemplares recolectados de estos géneros poco comunes para poder llevar a cabo un estudio taxonómico más profundo sobre la diversidad de estas avispas tanto en Chamela, como en todo el territorio mexicano.

A continuación se discute cada uno de los géneros de esta subfamilia en los que se encontraron incongruencias entre los distintos métodos de delimitación de especies.

### ***Digonogastra* Viereck**

En el caso de este género, al comparar las especies generadas por el árbol de NJ con las especies determinadas mediante caracteres morfológicos, se encontraron incongruencias en dos casos que poseen diferentes explicaciones.

En el primero de ellos, se encontraron dos ejemplares que presentan diferencias morfológicas muy marcadas sin embargo, el criterio del 2% de distancias genéticas los recuperó en el mismo grupo. Lo que muestran los valores de distancia genética es que posiblemente la muestra de ADN del ejemplar *Digonogastra* sp.3 contaminó la de *D.* sp1. por lo que la distancia genética entre ellos fue de 0% mientras que la distancia genética de este último con los otros ejemplares de *D.* sp1 fue mucho mayor al 2%. A pesar de que en este caso la evidencia morfológica claramente separa los ejemplares, es necesario examinar más organismos de estas dos morfoespecies para poder corroborar que genéticamente estamos en presencia de dos especies.

En el caso de la segunda incongruencia, al observar con mayor detalle las diferencias morfológicas entre los ejemplares de la morfoespecie 2 que fueron separados en el árbol de NJ, se descubre la posibilidad de que estos sean dos especies en lugar de una. Sin embargo la falta de trabajos taxonómicos sobre este género hacen difícil definir los caracteres morfológicos diagnósticos para estas especies, lo cual también se ve dificultado por la baja cantidad de ejemplares por morfoespecie que se encontraron en las recolectas de Chamela.

Los resultados obtenidos permitieron determinar bajo el criterio de taxonomía integradora, que de este género existen al menos 6 especies en la región de Chamela, con lo cual se establece un precedente para posteriores recolectas y estudios taxonómicos.

### ***Bracon*** Fabricius

Este género es muy extenso, aproximadamente el 33% de las especies de la subfamilia están agrupadas en *Bracon*, por lo cual no es sorprendente que esté descrito en la literatura como un grupo parafilético con respecto a los otros géneros de la misma tribu (Belshaw, 2001 y Quicke, 2015). Es probable que este fenómeno se deba a un proceso conocido como “chaining”, el cual consiste en asignar a un grupo todos los organismos que no pertenecen a ningún otro (Belshaw et al., 2001), y esto se refleja en la gran discrepancia que se encontró entre la delimitación mediante morfología y mediante caracteres moleculares de algunas especies; como en el caso de la morfoespecie 4, en la cual ocho ejemplares morfológicamente muy similares resultaron ser genéticamente muy distantes, presentando en la mayoría de los casos un valor superior al 5% de distancia genética, lo cual también sucedió en la morfoespecie 1 con siete ejemplares. Es interesante observar

que este fenómeno se observó en las morfoespecies a las cuales fue posible asignar un número de ejemplares mayor a 5, mientras que las morfoespecies representadas por uno o dos ejemplares se mantuvieron igual en el árbol de NJ, lo cual habla de la necesidad de una recolecta mayor para ampliar la variación genética con la que se estudia este género tan extenso.

En este caso, dada la falta de caracteres morfológicos claros para delimitar al género *Bracon* se dio mayor peso a la delimitación mediante caracteres moleculares y a las coincidencias que se obtuvieron mediante ambos métodos, obteniendo así, un total de 18 linajes evolutivos de éste género presentes en la región de Chamela.

Una propuesta interesante para trabajar la taxonomía de géneros como este y de Braconinae en general, consiste en explorar otros sistemas de caracteres morfológicos y fisiológicos tal como se ha hecho en otras familias y subfamilias de braconidos. Algunos ejemplos son, la variación morfológica de los genitales en microgastrinos (Maeto, 1996), el conducto de veneno en rogadinos (Zaldívar-Riverón et al., 2003), la morfología de la larva (Capek, 1970), la composición molecular del ovipositor y las mandíbulas (Quicke et al., 1998), entre otros estudios interesantes que recuperan aspectos de la morfología que permiten asociar a los organismos con su historia de vida (Belshaw et al., 2003), acerca de lo cual se conoce muy poco en braconinos.

## **Delimitación de especies**

### **Agathidinae**

En la actualidad, existen más trabajos sobre la distribución y taxonomía de esta subfamilia con respecto a Braconinae, por lo que en la mayoría de los casos fue posible determinar los ejemplares a nivel de especie mediante caracteres morfológicos, así como generar un árbol mediante el modelo de GMYC. La comparación del árbol de NJ con el árbol ultramétrico permitió determinar incongruencias en los géneros *Alabagrus*, *Zelomorpha* y *Bassus*, los cuales se discuten a continuación, mientras que los géneros *Zacremnops*, *Cremnops* y *Zamicrodus* se encontraron representados un una sola especie; estos géneros son particularmente poco diversos, en el mundo hay cuatro especies descritas

de *Zacremnops* y dos de *Zamicrodus*. *Cremnops* posee mayor diversidad con 77 especies de las cuales se conocen 22 en el Neotrópico (Yu et al., 2012).

### *Alabagrus* Enderlein

Este es un género parasitoide de lepidópteros y es exclusivo de América. Se distribuye desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina, y es particularmente diverso en los bosques húmedos del Neotrópico (Leathers et al., 2003). A pesar de que Chamela no es un región particularmente húmeda, se encontraron suficientes ejemplares de este género para utilizar tanto el criterio del 2% como el modelo de coalescencia GMYC.

La comparación de la información obtenida mediante morfología y caracteres moleculares bajo el criterio de taxonomía integradora permitió establecer una incongruencia

A pesar de que existe una coloración diferente en la zona del mesosoma entre ambas morfoespecies (Figura 16), se recuperaron en un mismo clado en el árbol ultramétrico (excepto el ejemplar 5d1) y en un mismo grupo en el dendograma de NJ. Dado que Sharkey (1988) describe al holotipo de la especie *A. ixtilton* como completamente negro pero que en el 8% de los casos presenta tonalidades naranjas en el escutelo, pronoto y parte del mesopleuron, se consideró que debido a que la distancia genética entre todos los ejemplares fue menor o igual al 2%, todos estos ejemplares pertenecen a una misma especie que presenta variaciones morfológicas.

### *Zelomorpha*

Este género es muy abundante en la zona de Chamela, el 47% de los ejemplares encontrados en el material de recolecta pertenecen a *Zelomorpha*. Sin embargo, la variación morfológica es muy sutil, todos los ejemplares son amarillo-naranjas, de antenas negras, y con pigmentación negra en la tibia y el tarso posterior; además presentan variación interespecífica en el color de las alas, la forma de la areola del propodeo y en la esculturación del pronoto (Sarmiento, 2006 y com. pers.). Estas características permitieron distinguir tres especies mediante morfología: *Z. bejaranoi*, *Z. arizonensis* y *Z. lenisterna* (Fig. 17). Esto coincide parcialmente con el árbol obtenido mediante NJ, en el que *Z.*

*bejaranoi* aparece claramente en un grupo independiente con tres ejemplares (grupo 1), mientras que los grupos 2 y 3 separan parcialmente a los ejemplares previamente delimitados mediante caracteres morfológicos en *Z.arizonensis* y *Z.lenisterna*.

En el caso de la delimitación de especies mediante el modelo de GMYC, se recuperaron el clado 1 y el clado 2 compuestos por los mismos ejemplares que en el árbol de NJ. Sin embargo, el clado 3 se recuperó dividido en tres linajes independientes. Estos tres grupos separan parcialmente las diferentes formas que presenta la aereola del propodeo. Sin embargo, tal como lo menciona Sarmiento (2006) en la revisión del género, existe mucha variación intraespecífica en los estados de este carácter. En este mismo estudio, los caracteres moleculares 28S y COI, recuperan a *Z.lenisterna*, *Z. oxybela* y *Z. arizonensis* como linajes evolutivos independientes muy cercanamente relacionados, con caracteres morfológicos poco variables, por lo que se considera posible que estas tres especies estén representadas en los tres grupos discriminados por el GMYC en el clado 3 de NJ, mientras que el clado 2 corresponde a otra especie morfológicamente muy similar denominada *Z. acuta*.

#### *Bassus* Fabricius

Este género cosmopolita presenta una situación similar al género *Bracon* de la subfamilia Braconinae. No existe un sistema de caracteres estandarizados con los cuales delimitar las especies de *Bassus*, y estudios mediante caracteres moleculares lo han identificado como un género polifilético (Sharkey et al., 2006). En el presente trabajo se discriminaron cinco morfoespecies con base en la coloración general del cuerpo, así como la forma y esculturación del metasoma (Fig. 19), de las cuales la morfoespecie 1 y 2 fueron reconocidas mediante el modelo de GMYC pero no por NJ, mientras que las morfoespecies 3 y 4 se recuperaron como una sola mediante ambos métodos. Sólo la morfoespecie 5 se conservó usando caracteres morfológicos y moleculares. Este resultado refleja la complejidad que gobierna al género, el cual además está compuesto por avispas muy pequeñas, sin variaciones morfológicas evidentes, por lo que es necesario tener mayor conocimiento de aspectos de su biología y fisiología para generar sistemas de caracteres más robustos y claros, así como un muestreo mayor para ampliar el número de poblaciones y por lo tanto la variación genética con la que se realizan los estudios moleculares de delimitación de especies.

La biodiversidad del planeta está compuesta por cada una de las especies que lo habitan, así como la manera en que éstas interactúan entre ellas y modifican su ambiente (Shlick-Steiner, 2010). Nosotros, como humanos racionales y conscientes de nuestro entorno, buscamos la manera de entenderlo asignando categorías y nombres a todos sus componentes, y este conocimiento básico, proporciona los cimientos para entender objetivamente la realidad en la vivimos, incluida la diversidad de especies con las que compartimos el planeta.

De esta manera, desde que Linneo proporcionó las bases para la nomenclatura científica en 1748, la taxonomía ha sido una parte esencial del estudio de la biodiversidad, ya que se encarga de la delimitación y nombramiento de las especies que la componen (Padial et al., 2010a). Este quehacer científico se ha desarrollado a lo largo del tiempo utilizando las herramientas que la tecnología pone a disposición de la investigación científica, por lo que hoy en día existen más de 20 conceptos de especie, así como distintos métodos de delimitación que utilizan diferentes sistemas de caracteres (Shlick-Steiner, 2010).

Esto último genera tanto problemas como soluciones, y una de ellas es la taxonomía integradora. Realizar estudios de taxonomía bajo el concepto de integración, significa utilizar la información de diferentes fuentes para proporcionar rigor y mayor estabilidad a los nombres de las especies, los cuales son importantes porque representan el vínculo directo con el conocimiento que se tiene acerca de ese organismo, y además componen el conocimiento que se tiene sobre la biodiversidad del planeta. Al comparar de manera analítica varios métodos de delimitación no sólo es posible identificar problemas taxonómicos como plasticidad fenotípica, especies crípticas o en estadios larvales, sino que es posible hacer inferencias sobre los procesos de especiación y la historia evolutiva de los linajes, proporcionando así las bases para estudios de mayor complejidad (Padial et al., 2010a).

Esta aproximación al estudio de la biodiversidad posee grandes ventajas sobre la práctica tradicional que utiliza un solo sistema de caracteres, y a su vez conlleva nuevos retos para el quehacer taxonómico, como la elección de caracteres que realmente

representen los procesos de especiación, y que al compararse arrojen resultados que reflejen mejor la realidad biológica de las especies. Sin embargo, una de sus mayores virtudes consiste en unificar los métodos y el conocimiento producido por diferentes disciplinas biológicas, que poseen como objetivo común descubrir los procesos evolutivos que dieron origen a las especies (Padial et al., 2010b).

## 7. CONCLUSIONES

- Se examinaron 314 ejemplares pertenecientes a las subfamilias Agathidinae y Braconinae de Estación Biológica de Chamela, Jalisco, México. De los cuales se determinaron seis y ocho géneros respectivamente, así como 16 y 27 especies con base en caracteres morfológicos.
- Se registró un género nuevo de la subfamilia Braconinae para el país, *Gozmanycomp*, representado por un solo ejemplar.
- Se utilizó el fragmento mitocondrial correspondiente al gen del Citocromo Oxidasa I para delimitar el número de especies usando el criterio de 2% de distancia genética corregida, así como el modelo de GMYC. Para Braconinae se obtuvieron 31 especies mediante el criterio de 2% de distancia genética corregida, y no fue posible usar el modelo de GMYC por el alto número de linajes representados por una sola especie. Para Agathidinae se obtuvieron 13 especies mediante el criterio de 2% de distancia genética corregida y 17 mediante el modelo de GMYC.
- Dos géneros de Braconinae presentaron incongruencias al comparar la delimitación morfológica con la molecular. Los datos moleculares recuperaron un mayor número de especies en ambas subfamilias. La alta divergencia genética y alto número de especies representadas por uno o dos ejemplares sugiere una mayor diversidad de la que se conoce para ambos taxones, particularmente para *Bracon*, el cual está constituido por especies que no han podido ser asignadas a otros géneros.
- En el caso de Agathidinae, se encontraron incongruencias en tres géneros. En el caso de *Alabagrus*, dos especies que aparentaban ser morfológicamente divergentes se redujeron a una con base en la evidencia molecular. *Zelomorpha* es un género

compuesto por especies morfológicamente muy similares, difíciles de determinar mediante claves dicotómicas, por lo que su diversidad está subestimada. *Bassus* es un género altamente heterogéneo y diverso que requiere de un trabajo taxonómico más profundo.

- La taxonomía integradora es una herramienta necesaria para cumplir el objetivo de la sistemática, ya que proporciona evidencia de diversas fuentes de información, lo cual sirve para robustecer la hipótesis de que una especie sea realmente un linaje evolutivo independiente. A su vez, este criterio también permite identificar problemas taxonómicos que de otra manera no serían evidentes. En este sentido, el gen correspondiente al código de barras de la vida ha permitido delimitar especies de grupos megadiversos, y actualmente es la principal apuesta de un proyecto internacional para contabilizar y estandarizar la rápida determinación de las especies animales de todo el planeta, a pesar de la gran utilidad de este sistema, este trabajo y muchos más, demuestran que sigue siendo importante usar diferentes aproximaciones al estudio de la diversidad para tener resultados más cercanos a la realidad de la naturaleza.
- Las secuencias obtenidas, las fotografías y los datos de recolecta de los organismos utilizados para este trabajo pueden ser consultados en la página oficial del sistema BOLD (<http://www.boldsystems.org/>)

## 8. REFERENCIAS

- Aguilar-Velasco, R.G.** 2013. Diversidad de especies y asociaciones de parasitoidismo en las avispas de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) de la Estación de Biología de Chamela, Jalisco. UNAM, Tesis de Licenciatura sin publicar.
- Ayala, R.** 1988. Abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 77:395-493.
- Achterberg, C. van.** 1984. Essay on the phylogeny of Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Entomologisk Tidskrift*, 105: 41–58.
- Baum, D.A. y Smith, S.D.** 2012. Tree Thinking, an Introduction to Phylogenetic Biology. *Roberts and Company Publishers*. Colorado, U.S.A.
- Basibuyuk, H.H. y Quicke, D.L.J.** 1999. Grooming behaviours in the Hymenoptera (Insecta): potential phylogenetic significance. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 125: 349-382.
- Belshaw, R., Herniou, E., Gimeno, C., Fitton, M.G. y Quicke, D.L.J.,** 1998. Molecular phylogeny of the Ichneumonoidea (Hymenoptera) based on D2 expansion region of 28S rDNA. *Systematic Entomology* 23: 109–123.
- Belshaw, R., López-Vammonde, C., Degerli, N. y Quicke, D.L.J** 2001. Paraphyletic taxa and taxonomic chaining: evaluating the classification of braconine wasps (Hymenoptera: Braconidae) using 28S D2-3 rDNA sequences and morphological characters. *Biological Journal of the Linnean Society*. 73(4): 411–24.
- Belshaw, R., Grafen, A. y Quicke, D.J.L.** 2003. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 139: 213–228.
- BOLDSYSTEMS.** 2015. Recuperado 2015, de <http://www.boldsystems.org/>

- Bourke, A.F.G.** 1988. Worker reproduction in the higher eusocial Hymenoptera. *The Quarterly Review of Biology*, 63: 291-311.
- Bond, J., Plattner, K y Hunt, K.** 2014. U.S. Pollinator Services Market. *United States Department of Agriculture*.
- Bullock, S. H.** 1988. Rasgos del ambiente físico y biológico de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 77:5-17.
- Coronado-Blanco, J.M., Ruíz ,R, Delfín, H, Sánchez, J.A, López, V., Figueroa, J.I y Zaldívar, A.** 2010. Grupo de Investigación de Braconidae de México. pp 237-284. En: Bastidas, J.M y Alonso, R. (Coords). *Redes y Grupos de Investigación en la Sociedad del Conocimiento. Experiencias de constitución y desarrollo en Iberoamérica. Tomo II. Ediciones Del Lirio. México.*
- Coronado-Blanco, J.M., Ruíz-Cancino, E., Ivanovich, K.A., Mireles-Cepeda, S., Rodríguez-Mota, A.J. y Castillo-Flores, P.M.** 2012. Revisión de la Clasificación de Braconidae (1900-2012): Subfamilias en México. *Ciencia Uat*, 24: 14-21.
- Coronado-Blanco, J.M y Zaldívar-Riverón, A.** 2014. Biodiversidad de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85:372-378.
- Capek, M.** 1970. A new classification of the Braconidae (Hymenoptera) based on the cephalic structure of the final instar larva and biological evidence. *Canadian Entomologist*, 102: 846-875.
- Delfín-González, H. y R. A. Wharton.** 2000. Historical review of the genera Rogas and Aleiodes in Mexico, with a redescription of *Aleiodes cameronii* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae). *Pan-Pacific Entomology*, 76:58-70.
- Delfín-González, H. y R. A. Wharton.** 2002. Distribution of species and species-groups of *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae) in Mexico. *Folia Entomológica Mexicana*, 41:215-227.

- Dowton, M., Austin, A.D. y Antolin, M.F.** 1998. Evolutionary relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA gene sequences. *Insect Molecular Biology*. 7(2): 129-150.
- Dowton, M y Austin, A.D.** 2001. Simultaneous analysis of 16S, 28S, COI and morphology in the Hymenoptera: apocrita-evolutionary transitions among parasitic wasps. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 87-111.
- Drumond AJ, Suchard MA, Xie D y Rambaut A.** 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.8.2. *Molecular Biology And Evolution*. 29: 1969-1973
- Estación de biología de Chamela.** (s.f). Actualizado 2012. Recuperado el 9 de mayo de 2014, de <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela/www/hist2.html>.
- Figuroa-De la Rosa, J. I., M. J. Sharkey, J. Romero-Nápoles, J. A. Sánchez-García, A. M. Martínez, V. López-Martínez y S. Pineda.** 2011. Revision of the new world genus *Crassomicrodus* Ashmead (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae), with an identification key to species. *ZooKeys*, 142:27-75.
- Fernández-Flores, S., Fernández-Triana, J.L., Martínez, J.J. y Zaldívar-Riverón. A.** 2013. DNA barcoding species inventory of Microgastrinae wasps (Hymenoptera, Braconidae) from a Mexican tropical dry forest. *Molecular Ecology*, 13: 1146-1150.
- Flores, S., Nassar, J. M., Quicke, D.L.J.** 2005. Reproductive phenology and pre-dispersal seed-feeding in *Protium tovarense* (Burseraceae), with a description of the first known phytophagous “Bracon” species (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae). *Journal of Natural History*, 39(42): 3663–3685
- Food and Agriculture Organization of the United Nations.** 2015. Recuperado 2015, de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E>.
- Fujisawa, T. y Barraclough, T.G.** 2013. Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets. *Systematic Biology Advance Access*.
- Fujita, M.K., Leaché, A.D., Burbrink, F.T., MacGuire, J.A., Moritz, C.** 2012. Coalescent-

based species delimitation in an integrative taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, 27: 9.

**Gauld, I.D.** 1988. Evolutionary patterns of host utilization by ichneumonoid parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae and Braconidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 35: 351–377.

**Gauld, I.D y Shaw.** 2006. Superfamilia Ichneumnoidea. Cap. 12 En: Hanson, E. y Gauld, I.D. (Eds). Hymenoptera de la región neotropical. *Memories of the american entomological institute*. Vol. 77.

**Gibson, G.A.P.** 1985. Some preand mesothoracic structures important for phylogenetic analysis of Hymenoptera, with a review of terms used for the structures. *Canadian Entomologist*, 117: 1395-1443.

**Grissell, E.E.** 1999. Hymenopteran diversity: some alien notions. *American Entomologist*, 45: 235–244.

**Griswold, T.L y Michener, C.D.** 1988. Taxonomic observations on Anthidiini of the Western Hemisphere (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 61: 22-45.

**Gutiérrez-Arellano, D., Gutiérrez-Arellano, C. y Zaldívar-Riverón, A.** 2015. DNA Barcoding of the parasitoid wasp subfamily Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae) from Chamela, Mexico. *Biodiversity Data Journal*, 3: e5109.

**Hajibabaei M., Singer GAC., Hebert PDN, y Hickey DA.** 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*. 23, 167–172.

**Handlirsch, A.** 1907. Die fossilen Insekten und die Phylogenie der rezenten Formen. Ein Handbuch für Paläontologen und Zoologen. Lieferung 6. Leipzig: Wilhelm Engelmann, pp. 801-960.

- Hanson, P y Gauld, I.D.** 1995. The Hymenoptera of Costa Rica. *Oxford University press*. 893pp.
- Hanson, P. y Gauld, I.D.** 2006. (Eds). Hymenoptera de la región neotropical. *Memories of the American Entomological Institute*. Vol. 77. Florida, E.U.
- 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 Biological Science*, 270:313-321.
- Hendrich, L., Pons, J., Ribera, I. y Balke, M.** 2010. Mitochondrial Cox1 Sequence Data Reliably Uncover Patterns of Insect Diversity But Suffer from High Lineage- Idiosyncratic Error Rates. *PlosOne*: 5(2).
- Heraty, J.M., Woolley, J.B.& Darling, D.C.** 1994. Phylogenetic implications of the mesofurca and mesopostnotum in Hymenoptera. *Journal of Hymenopteran Research*, 3: 241-77.
- Heraty, J.M., Ronquist, F., Carpenter, J.M., Hawks, D., Shulmeister, S., Dowling, A.P., Murray, D., Munro, J., Wheeler, W.C., Schiff, N., Sharkey, M.** 2011. Evolution of the Hymenopteran Megaradiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60: 73-80.
- Hernández, H.M.** 2002. Presentación En: Noguera, F.A., Vega Rivera, J.H., García Alderete, A.N y Quesada Avendaño, M. (Eds). *Instituto de Biología*. UNAM.
- Inayatullah, M.** 1992. A Systematic Study of the Genus *Vipio* Latreille (Hymenoptera: Braconidae) of the Nearctic and Neotropical Regions. University of Wyoming, U.S.A.
- Janzen, D.H., Sharkey, M.J. y Burns, J.M.** 1998. Parasitization biology of a new species of Braconidae (Hymenoptera) feeding on larvae of Costa Rican dry forest skippers (Lepidoptera: Hesperidae). *Tropical Lepidoptera 9 (suppl)*: 33-41.
- Jörger, M.K., Norenburg, J.L., Wilson, N.J. y Schrödl, M.** 2012. Barcoding against a paradox? Combined molecular species delineations reveal multiple cryptic lineages in

elusive meiofaunal sea slugs. *BMC, Evolutionary Biology*, 12: 245.

**Jones, O. R., Purvis, A., Baumgart, E. & Quicke, D. L. J.** 2009. Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Insect Conservation and Diversity*, 2: 204–212.

**Kimura M.** 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16, 111–120.

**Knowlton, N. & Weigt, L. A.** 1998 New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 265: 2257–2263.

**Kristensen, N.P.** 1991. Phylogeny of extant hexapods. En *The Insects of Australia*. Melbourne University Publishing, Melbourne, pp. 126-140.

**Leathers, J.W y Sharkey, M.J.** 2003. Taxonomy and Life History of Costa Rican Alabagrus (Hymenoptera: Braconidae), With a Key to World Species. *Contributions in Science*, 497: 1-82.

**Lenteren van, J.C.** 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57: 1-20.

**Maddison, W. P. y D.R. Maddison.** 2008. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.02. <http://mesquiteproject.org>

**Maeto, K.** 1996. Inter-generic variation in the external male genitalia of the Subfamily Microgastrinae (Hymenoptera, Braconidae), with a reassessment of Mason's tribal system. *Journal of Hymenoptera Research*, 5: 38-52.

**Marsh, P.M.** 1961. A taxonomic Study of the Genus *Cremnops* Foerster in America North of Mexico (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 54: 851-861.

**Marsh, P.M.** 2002. The Doryctinae of Costa Rica (excluding the genus *Heterospilus*). *Memoirs of the American Entomological Institute*. 70:1-206.

**Mason, W.R.M.** 1978. A synopsis of the Nearctic Braconini, with revisions of Nearctic

species of *Coeloides* and *Myosoma* (Hymenoptera: Braconidae). *The Canadian Entomologist*, 110: 721-768.

**Mason, W.R.M.** 1987. Discovery of female *Apozyx* (Hymenoptera: Apozygidae) and comments on its taxonomic position. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 89: 226-229.

**Mason, W.R.M y Huber, J.T.** 1993. Order Hymenoptera, Chapter 2. In: Goulet, H. y Huber, J.T (Eds). Hymenoptera of the world: an identification guide to families. *Centre for Land and Biological Resources Research*. Ottawa, Ontario.

**Monaghan M., Wild R., Elliot M et al.** 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology*. 58, 298–311.

**Muesebeck, C.F.W.** 1925. A revision of the parasitic wasps of the genus *Microbracon* occurring in America north of Mexico. *Proceedings of the United States National Museum*, 67:1-85.

**Nieves-Aldrey, J.L., Fontal-Cazalla, F.M y Fernández, F.** 2006. Filogenia y evolución de Hymenoptera. Cap.3, En: Fernández, F y Sharkey, M.J. (Eds). Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. *Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia*, Bogotá. 891pp.

**Papp, J.** 2007. A new genus and two new braconid species (hymenoptera: braconidae) dedicated to L. Gozmány. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 53:295–305.

**Padial, J.M., Miralles, A., de la Riva, I. y Vences, M.** 2010a. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7:16.

**Padial, J.M. y de la Riva, I.** 2010b. A response to recent proposals for integrative taxonomy. *Biological Journal of The Linnean Society*, 101: 747-756.

**Paknia, O., Sh, R.H. y Koch, A.** 2015. Lack of well-maintained natural history collections and taxonomists in megadiverse developing countries hampers global biodiversity exploration. *Organisms Diversity and Evolution*: 1-11.

**Paulus, H.F.** 1979. Eye structure and the monophyly of the Arthropoda. In: Gupta A.P. (Ed.)

*Arthropod phylogeny*. Van Nostrand Reinhold Company, E.U.

- Penacchio, F. y Strand, M.R.** 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 51: 233-258
- Pescador-Rubio, A., Rodriguez-Palafox, A y Noguera, F.A.** 2002. Diversidad y estacionalidad de Arthropoda En: Noguera, F.A., Vega Rivera, J.H., García Alderete, A.N y Quesada Avendaño, M. (Eds). *Instituto de Biología*. UNAM.
- Pons J., Barraclough T., Gomez-Zurita J., Cardoso A., Duran D., Hazell S., Kamoun S., Sumlin W. y Vogler A.** 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55: 595-610.
- Quicke, D.L.J. & van Achterberg, C.** 1990. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zoologische Verhandelingen Leiden*, 258: 1–180.
- Quicke, D.L.J.** 1997. Parasitic wasps. *Cambridge University Press*. Londres, Inglaterra.
- Quicke, D.L.J, Wharton, R.A y Sittertz-Bhatkar, H.** 1997. Antero-lateral abdominal scent glands of braconine wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 6:219-230.
- Quicke, D.L.J.** 1998. Subfaimlia Braconinae En: Wharton, R.A., Marsh, P.M. y Sharkey, M.J. (Eds). Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo. *The international society of hymnopterists*. No. 1.
- Quicke, D.L.J., Whyeth, P., Fawke, J.D., Basibuyuk, H.H. y Vincent, J.F.V.** 1998. Manganese and zinc in the ovipositors and mandibles of hymenopterous insects. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 124: 387–396.
- Quicke, D.L.J., Smith, A.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Fernández-Triana, J. et al.** 2012. Utility of the DNA barcoding gene fragment for parasitic wasp phylogeny (Hymenoptera: Ichneumonoidea): data release and new measure of taxonomic congruence. *Molecular Ecology Resources*.

- Quicke, D.L.J.** 2015. *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps*. John Wiley & Sons, Ltd. Oxford. UK.
- Rasnitsyn, A.P.** 1980. Origin and evolution of Hymenoptera. *Transactions of the Paleontological Institute of the Academy of Sciences of the USSR*, 174: 1–192.
- Rasnitsyn, A.P.** 1988. An outline of evolution of hymenopterous insects (order Vespida). *Oriental Insects*, 22, 115–145
- Resch, M.C., Shrubovych, J., Bartel, D., Szucsich, N.U., Timeltharel, G. et al.** 2015. Where Taxonomy Based on Subtle Morphological Differences Is Perfectly Mirrored by Huge Genetic Distances: DNA Barcoding in Protura (Hexapoda). *PLoS ONE*, 9(3): e90653.
- Rzedowski, J.** 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México, D.F., 432 pp
- Rodríguez-Palafox, A.** 1988. Las avispas sociales (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) de Chamela, Jalisco. *Folia Entomológica Mexicana*, 77:495-515.
- Santos A.M.C., Besnard, G. y Quicke D.L.J.** 2011. Applying DNA Bar Coding for the study of geographical variations in host-parasitoid interactions. *Molecular Ecology Resources*, 11:46-59.
- Sarmiento-Monroy, C.E. y Sharkey, M.** 2005. On the status of some species of Braconidae (Hymenoptera) described by J. C. Fabricius and the synonymy of *Dichelosus Szépligeti* with *Coccygidium* De Saussure. *Zootaxa*, 1067: 59-68.
- Sarmiento-Monroy, C.E.** 2006. Taxonomic revision of *Zelomorpha* Ashmead, 1900 and *Hemichoma* Enderlein, 1920 (Braconidae: Agathidinae) with a phylogenetic analysis of color patterns. *University of Kentucky Doctoral Dissertations*. Paper 351.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.P. y Lane, R.** 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Phil. Trans. R. Soc. B*: 360, 1805–1811.
- Shanks, S.S.** 1987. Two new species of *Osiris*, with a key to the species of Mexico (Hymenoptera: Anthophoridae). *The Wasmann Journal of Biology*, 45:1-15.

- Sharanowsky, B. J., Dowling, A.P.G, Sharkey, J.M.** 2011. Molecular Phylogenetics of the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) base on multiple nuclear genes, and implications for classification. *Systematic Entomology*, 36: 549–572.
- Sharkey, M.J.** 1988. A taxonomic revision of *Alabagrus* (Hymenoptera: Braconidae). Bulletin of the British Museum (Natural History). *Entomology Series*, 57:311-437
- Sharkey, M.J.** 1990. A revision of *Zacremnops* Sharkey and Wharton (Hymenoptera: Braconidae: Agathidinae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 92:561-570.
- Sharkey, M.J y Wahl, D.B.** 1992. Cladistics of the Ichneumonoidea (Hymenoptera). *Journal of the Hymenoptera Research*, 1:15-24.
- Sharkey, M.J.** 1998. Morfología y terminología. En: Wharton, R.A., Marsh, P.M. y Sharkey, M.J. (Eds). Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo. *The international society of hymenopterists*. No. 1.
- Sharkey, M.J.** 2006. Two new genera of Agathidinae (Hymenoptera: Braconidae) with a key to the genera of the New World. *Zootaxa*, 1185: 37-51.
- Sharkey, M.J y Wahl, D.B.** 2006. Superfamilia Ichneumonoidea. Cap 27, En: Fernández, F. y Sharkey, M.J. (Eds). Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. *Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia*. Bogotá, Colombia. 891pp.
- Sharkey, M.J y Fernández, F.** 2006. Biología y diversidad de Hymenoptera. Cap. 5, En: Fernández, F. y Sharkey, M.J. (Eds). Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. *Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia*. Bogotá, Colombia. 891pp.
- Sharkey, M.J.** 2007. Phylogeny and Classification of Hymenoptera. *Zootaxa*, 1668:521–548

- Shaw, S.R.** 2006. Familia Braconidae, Cap 12.2 En: Hanson, E. y Gauld, I.D. (Eds). Hymenoptera de la región neotropical. *Memories of the american entomological institute*. Vol. 77.
- Shaw, M.R y Huddleston, T.** 1991. Classification and biology of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Handbooks for the Identification of British Insects*, 7: 1-126.
- Shenefelt, R.D.** 1943. The genus *Atanycolus* Foerester in America north of Mexico. *Research Studies of the State College of Washington*, 11: 51-163.
- Shi, M., Chen, X.X y van Achterberg, C.** 2005. Phylogenetic relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA, 28S rDNA D2, 18S rDNA gene sequences and morphological characters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 37: 104-116.
- Shlick-Steiner, B., Steiner, M.F., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., Croizer, R.H.** 2010. Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity. *Annu. Rev. Entomol*, 55:421–38.
- Short, J.R.T.** 1978. The final larval instars of the Ichneumonidae. *Memoirs of the American Entomological Institute*, 25: 1-508.
- Shulmeister, S., Wheeler, W.C., Carpenter, J.M.** 2002. Simultaneous analysis of the basal lineages of Hymenoptera (Insecta) using sensitivity analysis. *Cladistics*, 18: 455-484.
- Snelling, R.** 1987. A revisión of the bee genus *Aztecantidium* (Hymenoptera: Megachilidae). *Pan Pacific Entomologist*, 63: 165-171.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M, y Kumar S.** 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Tobias, V.I.** 1967. A review of the classification, phylogeny and evolution of the family Braconidae (Hymenoptera). *Entomologicheskoye Obozreniye*, 46, 645–669.

- Trejo, I y Dirzo, R.** 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forests: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, 94: 133-142.
- Vilhelmsen, L.** 1996. The preoral cavity of lower Hymenoptera (Insecta): comparative morphology and phylogenetic significance. *Zoologica Scripta*, 25, 143–170.
- Vilhelmsen, L.** 2001. Phylogeny and classification of the extant basal lineages of the Hymenoptera (Insecta). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 131, 393–442.
- Vilhelmsen, L., Mikó, I. y Krogmann, L.** 2010. Beyond the wasp-waist: structural diversity and phylogenetic significance of the mesosoma in apocritan wasps (Insecta: Hymenoptera). *Zoological Journal of the Linnean Society* 159, 22–194.
- Watkins, J.F.II.** 1988. The army ants (Formicidae:Ecitoninae) of the Chamela Biological Station in Jalisco, Mexico. *Folia Entomológica Mexicana*, 77: 379-393.
- Wharton, R.A., Shaw, M.R., Sharkey, M.J. et al.** 1992. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea): a reassessment. *Cladistics*, 8: 199–235.
- Wharton, R.A.** 1998. Introducción. En: Wharton, R.A., Marsh, P.M. y Sharkey, M.J. (Eds). Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo. *The international society of hymenopterists*. No. 1.
- Wharton, R. A. y I. Mercado.** 2012. Braconidae (Hymenoptera). En Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México, Vol. II., J. E. Llorente, E. González y N. Papavero (eds.). UNAM-Conabio-Bayer. México. versión digital.
- Will, W.K., Mishler, D.B. y Wheeler, Q.D.** 2005. The Perils of DNA Bar Coding and the Need for Integrative Taxonomy. *Systematic Biology*, 54: 844-851.
- Yu, D. S. C., van Achterberg, C. & Horstman, K.** 2012. World Ichneumonoidea 2011. Taxonomy, biology, morphology and distribution. CD/DVD. Taxapad, Vancouver, Canada. [www.taxapad.com](http://www.taxapad.com)
- Zaldívar-Riverón, A y van Achterberg, C.** 2000. Family group names in Braconidae

(Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Journal of Hymenoptera Research*, 9: 254–270.

**Zaldívar-Riverón, A., Areekul, B., Shaw, M.R. y Quicke, D.L.J.** 2003. Comparative morphology of the venom apparatus in the braconid wasp subfamily Rogadinae (Insecta, Hymenoptera, Braconidae) and related taxa. *Zoologica Scripta*, 33: 223-237.

**Zaldívar-Riveron, A., Mori. M., Quicke, L.J.D.** 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.

**Zaldívar-Riverón, A., Belokobylskij, S. A., León-Regagnon, V., Martínez, J. J., Briceño, R., Quicke, D. 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

**Zaldívar-Riverón, A., Belokobylskij, S.A., León-Regagnon, V., Briseño, R., Quicke, D.L.J.** 2008. Molecular phylogeny and biogeography of the parasitic wasp subfamily Doryctinae. *Invertebrate Systematics*, 22: 345-363.

**Zaldívar-Riverón.A., Martínez, J.J., Ceccarelli F.S., de Jesus-Bonilla, V.S., Rodríguez-Pérez, A.C., Reséndiz-Flores, A y Smith, A.M.** 2010. DNA barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve. *Mitochondrial DNA*, 21: 18-23.