



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

IDENTIFICACIÓN DE ELEMENTOS VIRALES
ENDÓGENOS EN ESPECIES DE AVISPAS
ENDOPARASITOIDES DE LA SUBFAMILIA
ROGADINAE (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)
EMPLEANDO DATOS A ESCALA GENÓMICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ALEJANDRA DEL ROCIO RIVERA ESTRADA



DIRECTORA DE TESIS:
DRA. JOVANA MAGDALENA JASSO MARTÍNEZ

Cd. Mx. 2023



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.

RESUMEN

Las avispas parasitoides de la superfamilia Ichneumonoidea han adquirido elementos virales endógenos (EVEs) mediante domesticación viral por endogenización. Estas asociaciones con EVEs se presentan en forma de polydnavirus (PDV) o partículas similares a virus (VLP), ayudando a las avispas a deprimir el sistema inmune de sus huéspedes principalmente. Los EVEs conservan genes centrales antiguos (GCAs) que son compartidos por virus de ADN de doble cadena (ADNdc) que infectan artrópodos y que están implicados en la replicación viral. En la familia Braconidae, solo se habían reportado EVEs en especies endoparasitoides koinobiontes (*i.e.* que paralizan temporalmente a su hospedero) de las subfamilias del complejo Microgastroide y Opiinae.

En este trabajo se analizaron datos genómicos de 18 especies de la subfamilia endoparasitoide koinobionte Rogadinae con el fin de caracterizar su microbioma y viroma mediante búsquedas de homología y asignación taxonómica, así como para determinar la presencia de GCAs a través de técnicas bioinformáticas y análisis filogenéticos. La caracterización del microbioma de 16 de las 18 especies examinadas presentó de manera predominante a las familias bacterianas Bacillaceae, Clostridiaceae, Enterobacteriaceae y Streptomycetaceae. También se identificaron secuencias similares a las familias *Rountreeviridae*, *Myoviridae* y *Herpesviridae*. Mediante la búsqueda dirigida de GCAs pertenecientes a EVEs, se identificaron secuencias de tres GCAs en una especie del género *Yelicones*. A través de análisis filogenéticos se pudo determinar que las secuencias virales encontradas en *Yelicones* están relacionados con EVEs de especies pertenecientes a la familia Figitidae (Hymenoptera), particularmente al virus filamentoso *Leptopilina boulardi* (LbFV).

Los resultados obtenidos muestran por primera vez la presencia de EVEs para una especie de avispa braconida de la subfamilia Rogadinae. Futuros estudios realizados a partir de la secuenciación del genoma completo de rogadinos permitirán caracterizar la arquitectura de las secuencias virales presentes en esta subfamilia y así poder confirmar si éstas son endógenas.

1. Datos del alumno

Alejandra del Rocio Rivera Estrada
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
316199719

2. Datos de la directora

Dra. Jovana Magdalena Jasso Martínez
National Museum of Natural History. Smithsonian Institution.
Department of Entomology.

3. Datos del sinodal 1

Dra. Claudia Patricia Ornelas García
Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Biología
Colección Nacional de peces

4. Datos del sinodal 2

Dr. Johnattan Hernández Cumplido
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Departamento de Ecología y Recursos Naturales

5. Datos del sinodal 3

Dr. Alejandro Rodrigo Jácome Ramírez
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología Evolutiva

6. Datos del sinodal 4

Dr. Yair Romero López
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología Celular

Datos de la tesis

Título: Identificación de elementos virales endógenos y de comunidades bacterianas en especies de avispas endoparasitoides de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) empleando datos a escala genómica.

Palabras clave: Rogadinae, viroma, microbioma, Elementos Virales Endógenos, genes centrales antiguos, Genómica

100 p

2023

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Dante y Rocío, y a mi tía Mayra, por siempre escucharme y apoyarme, pero sobre todo por alentarme a seguir adelante, por sus valiosos consejos y por tanto amor. A mi hermano y a mis primos Emilio e Isaac por el apoyo y el cariño.

A mis abuelos: Lenny, Esteban y Natividad, y a mis tíos Andy, Haidee y Laura, por tanto cariño.

A mis perros Maximus y Magnus, por la compañía en mis momentos más oscuros y por el amor incondicional.

A mis amigos del alma: Iván y Lalo, por apoyarme y acompañarme en momentos buenos y malos, por escucharme cuando lo necesito, por tantas risas tan oportunas y por su amistad.

A mis entrañables amigos de la carrera: Tonatiuh Legorreta, Dyliang y Saúl, por las risas durante las clases, por acompañarme en momentos de mucho estrés, por tan buenas pláticas y consejos, pero sobre todo gracias por su invaluable amistad.

A Diana Mil, por tantas risas y por tu compañía durante el tiempo que duró este proyecto tan importante para mí. Gracias por tu amistad.

A la Dra. América Castañeda, gracias en verdad por confiar en mí y por darme una de las experiencias más bonitas y gratificantes de mi carrera. Estoy eternamente agradecida ya que gracias a usted supe que estudiar Biología fue la mejor decisión que pude haber tomado y que me quería dedicar a la investigación.

A la Dra. Jovana Jasso, por acompañarme y ser mi mentora durante el tiempo que duró este proyecto y gracias por tenerme tanta paciencia. Al Dr. Alejandro Zaldívar, gracias por los consejos, por las pláticas y por la amistad. A ambos, muchas gracias por confiar en mí para realizar este proyecto, por todas las enseñanzas y por introducirme en este mundo tan enigmático y fascinante de las relaciones mutualistas entre insectos y virus.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
Viroma de los insectos	6
Nudivirus, elementos virales endógenos (EVEs) y genes de origen viral	7
Polydnavirus (PDV) y partículas similares a virus (VLP)	12
Microbiota de los insectos	18
Clase Insecta	20
Orden Hymenoptera	21
Parasitoidismo en Hymenoptera	23
Superfamilia Ichneumonoidea	24
Familia Braconidae	25
Subfamilia Rogadinae	27
Técnicas de secuenciación masiva	29
Herramientas bioinformáticas para la búsqueda de EVEs	33
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	34
OBJETIVOS	35
General	35
Particulares	35
MÉTODOS	35
Muestreo de taxones	35
Construcción de librerías genómicas y secuenciación	37
Control de calidad y filtrado de secuencias	38
Ensamble genómico	39
BLAST	39
Asignación taxonómica	39
Marcos de lectura abierta (ORFs)	40
Confirmación y afinidad filogenética de secuencias virales	40
Búsqueda de secuencias virales	41
RESULTADOS	42
Secuenciación	42
Ensamble genómico	43
Asignación taxonómica del microbioma	43
Afinidad filogenética de las secuencias virales identificadas en especies de Rogadinae	44
DISCUSIÓN	50
Composición del microbioma en Hymenoptera	50
Retos de las estrategias y/o herramientas bioinformáticas para la identificación de EVEs	52
Implicaciones de la presencia de EVEs en las estrategias de parasitoidismo en Ichneumonoidea	53
Presencia de genes similares a virus filamentosos en genomas de Rogadinae	54
Importancia de datos a escala genómica para la identificación de EVEs	55
Perspectivas	56
CONCLUSIONES	56
REFERENCIAS	57

ANEXOS	85
ANEXO 1	85
ANEXO 2	99

INTRODUCCIÓN

Viroma de los insectos

Los virus son organismos difíciles de definir debido a que presentan una amplia diversidad de características, algunas de estas son su tamaño: la mayoría son más pequeños que una bacteria y pueden componerse de una proteína y un ácido nucleico, siendo este último el que comprende todo su material genético (Norkin, 2010). Además, los virus no son de naturaleza celular, todos son parásitos intracelulares obligados y requieren de la maquinaria del huésped para poder replicarse (Payne, 2017). Luria *et al.* (1978) los define como “[...] entidades cuyos genomas son elementos de ácido nucléico que se replican dentro de las células vivas utilizando la maquinaria de síntesis celular y provocando la síntesis de elementos especializados que pueden transferir el genoma viral a otras células”.

La mayoría de los virus se transmiten horizontalmente por viriones que se producen a través de la replicación (Burke *et al.* 2014). Este estilo de vida hace que los virus a menudo sean patógenos y tengan genomas compactos con tasas de evolución que suelen ser mucho más altas que los organismos huéspedes que infectan (Duffy *et al.* 2008). Los virus infectan a múltiples formas de vida, incluso a ellos mismos, pero a pesar de todo esto, los posibles resultados de una infección por virus a nivel celular van desde la producción de partículas de virus sin daño a la célula, muerte celular y, ocasionalmente, la transformación celular (Payne, 2017). En humanos y animales, los resultados de la infección varían de no aparentes, *i.e* sin enfermedad, a enfermedades considerables y muerte (Payne, 2017). Particularmente en insectos, se sabe de la existencia de virus mutualistas que resultan beneficiosos para varios aspectos de su biología, incluso su evolución (Coffman y Burke, 2020).

El viroma de los insectos está compuesto por diferentes tipos de virus, incluyendo los virus que infectan al insecto mismo, virus de microorganismos asociados con el insecto y virus asociados con materia ingerida (Bonning, 2020). Existen complejas interacciones entre los virus de los insectos y las vías inmunitarias antivirales del huésped (interferencia de ARN y apoptosis), así como entre los virus y otros miembros del microbioma (como bacterias del género *Wolbachia*) (Bonning, 2020). En el viroma de insectos, se han identificado virus de ADN de doble cadena (ADNdc) de replicación nuclear con huéspedes restringidos únicamente a los artrópodos (Wang *et al.* 2011). Estos virus de ADNdc se pueden clasificar en varias familias virales que pertenecen al menos a dos grupos principales, 1) los virus grandes de ADN nucleocitoplasmáticos (NCLDV), conformado por familias como *Ascoviridae*, *Iridoviridae* y *Poxviridae*, y 2) los virus de ADN grandes nucleares específicos de artrópodos (NALDV), comprendido por familias como *Baculoviridae*, *Hytrosaviridae* y

Nudiviridae (Iyer *et al.* 2001; Wang *et al.* 2012; Gilbert y Belliardo, 2022). Los iridovirus, poxvirus y los nudivirus están muy extendidos en varios órdenes de insectos, los baculovirus solo se han encontrado en lepidópteros, hemípteros y dípteros, y los hytrosavirus solo se conocen en dípteros e himenópteros (Gilbert y Belliardo, 2022). Se sabe que los ascovirus infectan solo a larvas de lepidópteros, principalmente de la familia Noctuidae (Williams *et al.* 2017).

A pesar de que los virus generalmente usan un conjunto muy diverso de estrategias para la replicación, existen al menos seis genes que codifican componentes de replicación que son comunes a los NALDV y NCLDV (Wang *et al.* 2012). Estos genes están presentes en la mayoría de los miembros de las principales familias de virus en estos grupos y son conocidos como genes centrales antiguos (o *ancient core genes*), aunque es posible que no compartan un origen común (Iyer *et al.* 2006; Wang *et al.* 2012).

Uno de los grupos de virus de insectos más extenso y mejor estudiado es la familia *Baculoviridae*, perteneciente a los NALDV, los cuales se han aislado en forma de cuerpos de oclusión (Wang *et al.* 2011). Todos los baculovirus comparten 30 genes ortólogos (considerados como los genes centrales de esta familia) asociados con la transcripción de genes, la replicación del genoma, la infectividad oral, el empaquetamiento del genoma y el ensamblaje del virión (Herniou *et al.* 2001; McCarthy y Theilmann, 2008). El hecho de que los nudivirus compartan genes centrales de baculovirus respalda fuertemente su ascendencia común con este grupo viral (Wang *et al.* 2007a, b, c; Wang y Jehle, 2009).

Nudivirus, elementos virales endógenos (EVEs) y genes de origen viral

La endogenización viral ocurre cuando se integra y se transmite verticalmente el material genético derivado de virus en la línea germinal de un organismo huésped (Burke *et al.* 2021). Sin embargo, la domesticación viral es un ejemplo más especializado de endogenización, en el cual se inmovilizan los genes de replicación del virus para que se conserven en los genomas del huésped a lo largo del tiempo y, a menudo, confiere una nueva función que beneficia al organismo eucariota (Burke y Strand 2012; Pichon *et al.* 2015; Gauthier *et al.* 2018).

En las avispas de la superfamilia Ichneumonoidea, la cual contiene a las familias Braconidae e Ichneumonidae, se han identificado elementos virales endógenos (EVEs), los cuales son secuencias de origen viral que están integrados en su genoma (Burke *et al.* 2021; Santos *et al.* 2022) y que conservan la capacidad de producir virus o partículas similares a virus dentro de los tejidos reproductivos de las avispas (Coffman y Burke, 2020). La mayoría

de EVEs están sujetos a la tasa de evolución neutral de su huésped, lo que resulta en la persistencia como fragmentos del genoma viral ancestral que se vuelven no funcionales por mutación (Kijima e Innan, 2010; Feschotte y Gilbert, 2012). También se han identificado algunos genes únicos o dominios reguladores de origen viral que han dado lugar a nuevas funciones no virales en el huésped (Mallet *et al.* 2004; Holmes, 2011; Feschotte y Gilbert, 2012).

Hasta ahora, se han detectado cinco casos independientes de domesticación viral en avispas endoparasitoides, cuatro de ellos se encuentran dentro de la superfamilia Ichneumonoidea (Bézier *et al.* 2009; Volkoff *et al.* 2010; Pichon *et al.* 2015; Burke, 2019; Guinet *et al.* 2023) y uno en la superfamilia Cynipoidea (Di Giovanni *et al.* 2020; Guinet *et al.* 2023). Los cuatro casos en los que se ha identificado la familia de virus del donante involucran virus de ADN de doble cadena (Guinet *et al.* 2023), particularmente de la familia *Nudiviridae* en tres de estos casos (Bézier *et al.* 2009; Pichon *et al.* 2015; Burke *et al.* 2019) (**Figura 1**), mientras que el cuarto involucra una familia de virus filamentosos similares a *Leptopilina bouvardi* (LbFV). Los nudivirus son virus no ocluidos con genomas de DNA de doble cadena circulares relacionados con baculovirus e hytrosavirus de insectos (Wang y Jehle, 2009). Estos virus pueden infectar todas las etapas de desarrollo y tienen un tropismo tisular variado (Burke, 2019). Los nudivirus pueden causar enfermedades (como mortalidad en las larvas), pueden permanecer asintomáticos en las etapas de vida de los insectos inmaduros y maduros, o pueden volverse crónicos en adultos y causar malformaciones corporales o esterilidad (Burand, 1998). En particular, algunos nudivirus patógenos pueden integrarse en los genomas de las células huésped, formando una infección latente o endogenizándose, como en las avispas parasitoides (Lin *et al.* 1999). Los nudivirus se pueden dividir en los géneros: *Alphanudivirus* y *Betanudivirus* (Jehle *et al.* 2013). Treinta y tres genes se comparten entre todos los genomas de nudivirus actualmente secuenciados (**Figura 2**) (Wang y Jehle, 2009; Pichon *et al.* 2015; Burke *et al.* 2018a). Las funciones de muchos de estos genes se pueden categorizar como asociados a: la transcripción; infectividad; metabolismo de nucleótidos; replicación del ADN, tales como: empaquetamiento, ensamble y morfogénesis (Burke, 2019).

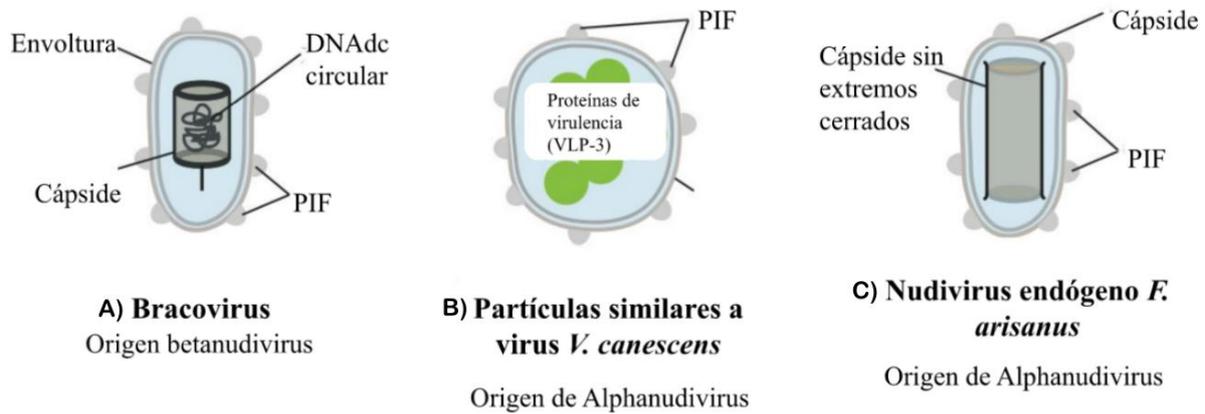


Figura 1. Tipos de EVEs derivados de nudivirus en avispas parasitoides y sus características. Los bracovirus se originan a partir de nudivirus que pertenecen al género *Betanudivirus* (A), mientras que las partículas similares a virus (VLP) de *V. canescens* (B) y el nudivirus endógeno de *F. arisanus* (FaENV) (C) se derivan de los nudivirus del género *Alphanudivirus*. Los viriones de bracovirus tienen nucleocápsides cilíndricas envueltas que contienen ADN circular de doble cadena. Las VLP de *V. canescens* tienen una forma menos definida, con envolturas que empaquetan proteínas de virulencia derivadas de avispas (VLP1-3), pero carecen de ADN o cápsides. Las partículas de ENV *F. arisanus* están envueltas y tienen cápsides alargadas que carecen de ADN y extremos cerrados. Todos los EVE derivados de nudivirus producen viriones o VLP con envolturas que contienen factores de infectividad mediante vía oral (PIF, codificados por genes pif 0-8) (modificado de Burke, 2019).

Datos recientes sugieren que todos los genomas de nudivirus completos se integraron una o más veces en los genomas de las avispas y, posteriormente, se produjo una pérdida de genes, de modo que solo los genes importantes para la producción de viriones o VLP se conservaron (Burke, 2019). En los baculovirus, los genes de la ARN polimerasa son algunos de los primeros que se transcriben en el ciclo de replicación (Burke, 2019). La holoenzima ARN polimerasa reconoce promotores específicos y funciona para transcribir genes que codifican los componentes estructurales de los viriones durante su ciclo de replicación (Rankin *et al.* 1988; Xing *et al.* 2005). Hasta ahora se sabe que estos genes se conservan universalmente en EVEs parasitoides (Burke, 2019). La mayoría de los genes derivados de nudivirus en los genomas de parasitoides no contienen intrones, una característica compartida con los genes de baculovirus, que son transcritos por la ARN polimerasa codificada por baculovirus (Burke, 2019). Sin embargo, se han detectado intrones en varios de los genes de la subunidad de ARN polimerasa presentes en los genomas de los parasitoides, lo que hace probable que las holoenzimas de ARN polimerasa de origen viral no participen en su propia producción y, en cambio, estén controladas por la maquinaria transcripcional de la avispa (Burke *et al.* 2013; Burke *et al.* 2018b). En los nudivirus y baculovirus, el ADN polimerasa viral funciona para replicar su genoma (Tomalski *et al.* 1998; Vanarsdall *et al.* 2005). Sin embargo, este gen de importancia clave, ADN polimerasa, falta constantemente en los virus endógenos de parasitoides derivados de nudivirus (Bézier *et al.* 2009; Burke *et al.* 2014;

Pichon *et al.* 2015; Burke *et al.* 2018a). La pérdida de ADN polimerasa en los virus parasitoides podría estar puramente relacionada con el hecho de que estos virus son endógenos y ya no necesitan una polimerasa separada de la maquinaria del huésped (Burke, 2019).

Los genes que codifican los factores de infectividad (infección oral) son llamados PIFs, y existen del pif-0 al pif-8 (Wang *et al.* 2017; Boogaard *et al.* 2018). Estos genes están presentes en varios virus de ADN de invertebrados y se ha sugerido que codifican componentes de una antigua vía de entrada de virus (Wang *et al.* 2017). Los genes implicados en la infectividad (listadas en la **Figura 2**), forman un complejo que se encuentra ubicado en las envolturas de los viriones pertenecientes a la familia de baculovirus derivados de la oclusión, excepto pif-5, que funciona de forma independiente (Peng *et al.* 2012). Los PIFs son esenciales para la infección de las células del intestino después de la infección oral de larvas de lepidópteros (Faulkner *et al.* 1997; Kikhno *et al.* 2002; Pijlman *et al.* 2003). En los virus endógenos de parasitoides, estos genes también se conservan casi universalmente (Burke, 2019). La retención de genes PIF en los EVE asociados a parasitoides sugieren su importancia para la infección de las células huésped, a pesar de la administración de viriones o VLP mediante inyección durante la oviposición en los huéspedes en lugar de la infección oral (Burke, 2019).

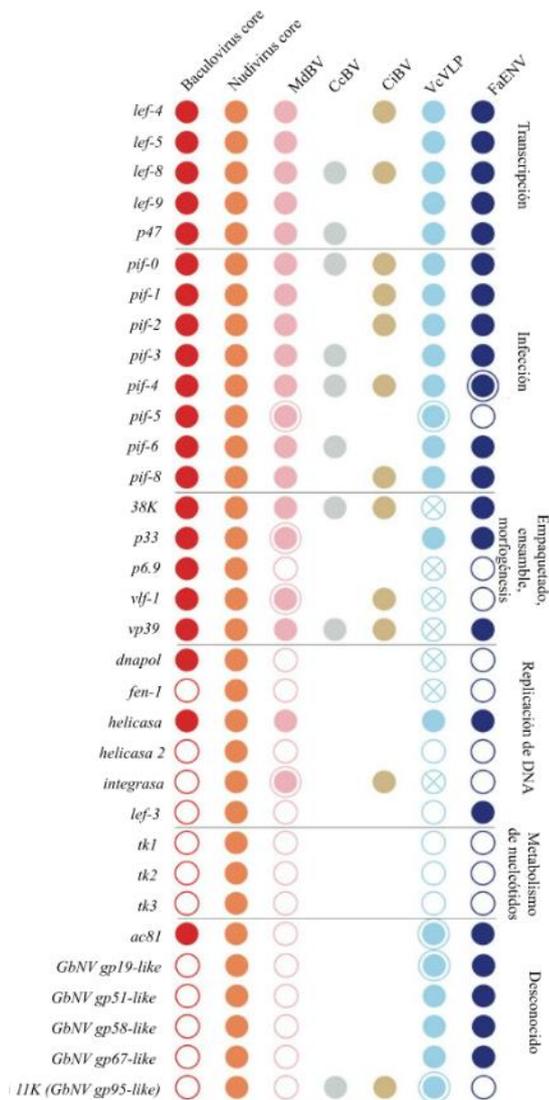


Figura 2. Genes conservados en baculovirus, nudivirus y virus similares a nudivirus endógenos de avispas parasitoides, para 33 genes de nudivirus centrales. Los genomas completos de avispas parasitoides están disponibles para *Microplitis demolitor* (MdBV), *Venturia canescens* (VcVLP) y *Fopius arisanus* (FaENV), mientras que solo hay datos genómicos parciales disponibles para *Cotesia congregata* (CcBV) y *Chelonus inanitus* (CiBV). Los círculos rellenos indican la presencia universal de un gen en baculovirus o nudivirus, o la identificación de un gen en un virus endógeno de avispas parasitoides. Los círculos abiertos indican la ausencia de un gen en el conjunto de genes básicos de baculovirus o nudivirus, o la falta de detección de un gen en el genoma de una avispa parasitoide, mientras que la ausencia de un círculo indica datos incompletos. Un círculo exterior ampliado indica la expansión en una familia de genes en un genoma de avispa. Un círculo relleno con una cruz indica la presencia de un pseudogen en el genoma de una avispa; no se dispone de información sobre la presencia de pseudogenes para bracovirus o FaENV (modificado de Burke, 2019).

Existen otros genes que codifican funciones de replicación del ADN, incluidos fen-1, helicasa 2, integrasa y lef-3, que están ausentes de forma variable en los genomas de parasitoides, lo que indica que la retención podría ser ventajosa para la producción eficaz de viriones o VLP en algunos, pero no en todos los genomas de parasitoides (Burke, 2019). Finalmente, los genes involucrados en la producción y ensamblaje de nucleocápsides virales no están bien conservados entre los virus parasitoides endógenos (Burke, 2019). Estos

codifican P33 (Ac92, que codifica una sulfhidrilo oxidasa), 38K (una fosfatasa implicada en la desfosforilación de P6.9), P6.9 (una proteína de unión y empaquetamiento del ADN), Vp39 (la principal proteína de la cápside) y Vlf-1 (una proteína multifuncional que funciona como un factor de transcripción, una proteína de la cápside que empaqueta el ADN y una recombinasa) (Pearson *et al.* 1988; McLachlin y Miller, 1994; Yang y Miller, 1998; Vanarsdall *et al.* 2006; Burke *et al.* 2013; Lai *et al.* 2018). Existen patrones de pérdida de estos genes, demostrando así que la producción de cápsides no es una característica requerida de todos los viriones o VLP producidos por parasitoides para interacciones exitosas con huéspedes (Burke, 2019). En cambio, la falta de una cápside intacta (y genes subyacentes) podría explicar las diferencias en las estrategias utilizadas por los viriones o las VLP para permitir que los huevos o las larvas del parasitoide eviten las defensas del huésped (Burke, 2019).

El primer y mayormente estudiado linaje de EVE derivados de nudivirus en avispa parasitoides son los polydnavirus del género *Bracovirus* (Francki *et al.* 1991), perteneciente a la familia *Polydnviridae*.

Polydnavirus (PDV) y partículas similares a virus (VLP)

En las familias Braconidae e Ichneumonidae se encuentran especies que producen EVEs en sus tractos reproductivos para promover el parasitismo exitoso sobre los insectos que fungen como sus huéspedes (Whitfield, 2002). Los EVEs en forma de virus (polydnavirus o PDV) producen proteínas virulentas que suprimen el sistema inmune del huésped (Santos *et al.* 2022). Los PDV conforman una familia de virus (*Polydnviridae*) que se asocian específicamente con avispa cuyos huéspedes son principalmente lepidópteros en estadio larval (Webb y Strand, 2005; Strand, 2010; Burke y Strand, 2012).

Los PDV son grandes virus de ADN de doble cadena cuyo genoma empaquetado se compone de múltiples moléculas de ADN circular que codifican genes de virulencia (Santos *et al.* 2022). Además de estos segmentos provirales, los genomas de PDV integrados incluyen grupos de genes de replicación que se expresan en las células del cáliz de avispa durante el proceso de producción de PDV, pero no se empaquetan en las partículas virales (Santos *et al.* 2022). La morfología de los PDV que se encuentran en Ichneumonidae y Braconidae es muy variable (Stoltz y Whitfield, 1992), y las secuencias genómicas de la maquinaria de replicación muestran afinidad con diferentes clases de virus (betanudivirus de insectos y baculovirus para BV y algunos virus pertenecientes a los NCLDV para IV) (Bézier *et al.* 2009; Volkoff *et al.* 2010; Béliveau *et al.* 2015).

Polydnaviridae se divide en tres grupos altamente divergentes; *Bracovirus* (BV), encontrados en miembros de las subfamilias del complejo Microgastroide (avispa bracónidas); *Ichnovirus* (IV), presentes en algunos grupos de avispa ichneumonídas de la subfamilia Campopleginae (Whitfield y O'Connor, 2012); y los *Banchovirus*, encontrados en avispa ichneumonídas de la subfamilia Banchinae (Lapointe *et al.* 2007) (la distribución de los tres grupos de PDV entre las subfamilias Ichneumonoideas se resume en la **Tabla 1**).

Tabla 1. Distribución taxonómica de PDV entre los grupos de avispa (tomado de Whitfield y O'Connor, 2012 y Santos *et al.* 2022). Se especifica a la derecha del taxón la presencia de polydnavirus (PDV) o partículas similares a virus (VLP).

Subgrupo de PDV	Familia de avispa	Subfamilia de Avispa	Género o especie representativo
<i>Bracovirus</i> (BV)	Braconidae	Cardiochilinae	<i>Cardiochiles, Toxoneuron</i>
		Cheloninae	<i>Adelius, Chelonus, Ascogaster, Phanerotoma</i>
		Khoikhoiinae	<i>Sania, Khoikhoia</i>
		Mendesellinae	<i>Epsilogaster, Mendesella</i>
		Microgastrinae (PDV)	<i>Apanteles, Cotesia, Doilcogaster, Dolichogenidea, Glyptapanteles, Hypomicrogaster, Microgaster, Microplitis, Pholetesor</i>
		Miracinae	<i>Mirax</i>
		Ophiinae (VLP)	<i>Fopius arisanus, Fopius cerativivorus, Fopius brevisi, Fopius desideratus</i>
<i>Ichnovirus</i> (IV)	Ichneumonidae	Campopleginae	<i>Bathyplectes</i> (PDV), <i>Campoletis</i> (PDV), <i>Campoplex</i> , <i>Casinaria</i> (PDV), <i>Diadegma</i> (PDV), <i>Dusona</i> (PDV), <i>Eriborus</i> (PDV), <i>Hyposoter</i> (PDV), <i>Olesicampe</i> (PDV), <i>Sinophorus</i> , <i>Tranosema</i> (PDV), <i>Tranosemella</i> (PDV) <i>Venturia</i> (VLP)

		Pimplinae (VLP)	
<i>Banchovirus</i>	Ichneumonidae	Banchinae	<i>Banchini</i> , <i>Glyptini</i> (PDV), <i>Atrophini</i> (PDV).

Los BV (*Bracovirus*) están asociados con alrededor de 50,000 especies de braconidos distribuidos en seis subfamilias, Microgastrinae, Cardiochilinae, Cheloninae, Miracinae, Mendessellinae y Khoikhoiinae (Whitfield y O'Connor, 2012). Estas subfamilias forman un grupo monofilético denominado “el complejo microgastroide” (Quicke y van Achterberg, 1990). Este complejo divergió hace aproximadamente 100 millones de años de las otras 18 subfamilias reconocidas de braconidos que no portan BV (**Figura 3**) (Murphy *et al.* 2008; Strand y Burke, 2014; Burke *et al.* 2021; Santos *et al.* 2022). Los IV están asociados con aproximadamente 14,000 especies de ichneumonidos en dos subfamilias de Ichneumonidae: Campopleginae y Banchinae (**Figura 3**) (Webb y Strand, 2005; Strand y Burke, 2014). La relación filogenética de Campopleginae y Banchinae sigue sin resolverse, pero no se han observado IVs en ninguna de las otras 23 subfamilias de ichneumonidos que existen actualmente alrededor del mundo (Webb y Strand, 2005).

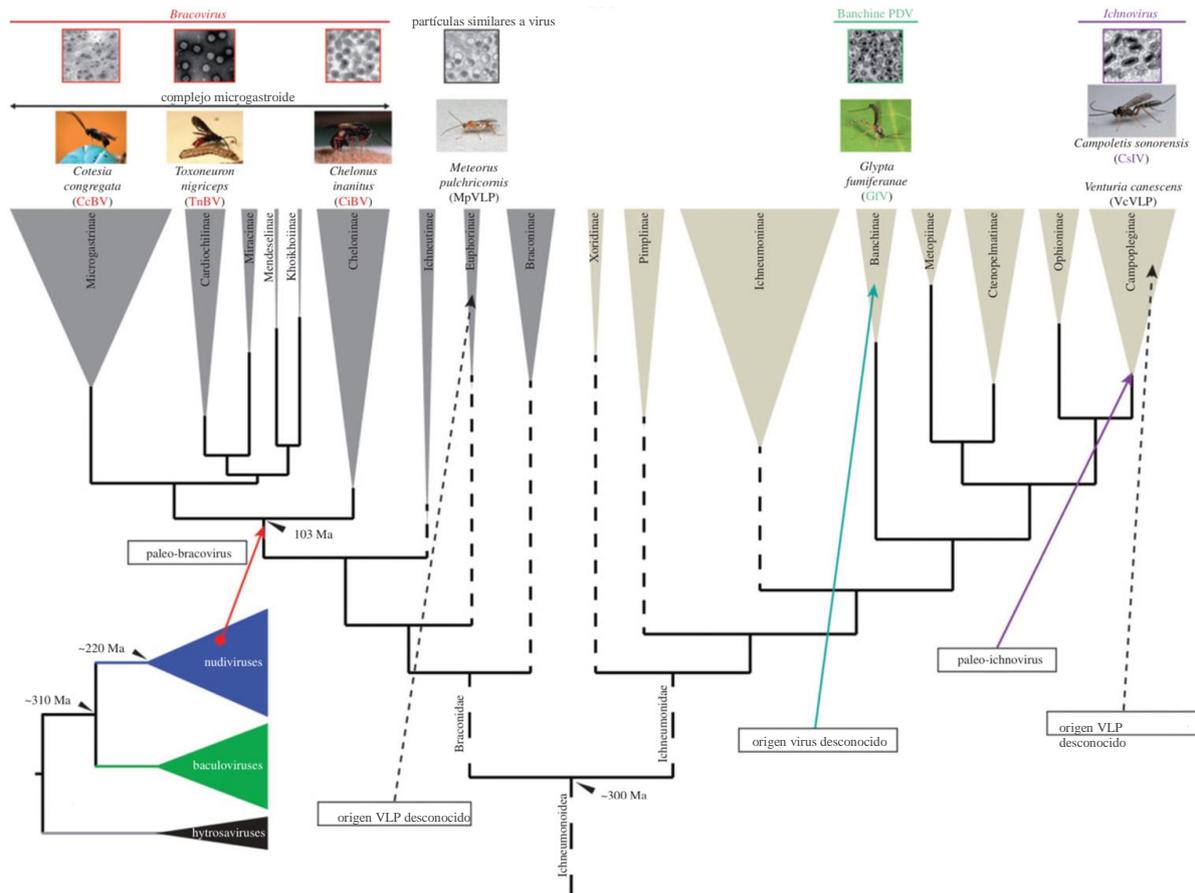


Figura 3. Relaciones filogenéticas de avispas pertenecientes a la superfamilia Ichneumonoidea que portan EVEs. Los triángulos terminales indican la abundancia relativa de especies de avispas en cada subfamilia (modificado de Herniou *et al.* 2013).

La mayoría de los virus de ADNdc grandes tienen genes que se pueden dividir en dos categorías: 1) genes de replicación, que codifican la maquinaria de replicación esencial y se conservan entre los genomas y 2) genes de virulencia, cuyos productos interactúan con las defensas del huésped (**Figura 4**) (Yutin *et al.* 2009; Rohrmann 2011; Kawato *et al.* 2018). Los PDV tienen dos componentes que se encuentran dispersos dentro de los genomas de las avispas: genes de replicación y segmentos provirales (es decir, regiones del genoma que se empaquetan en viriones y contienen genes de virulencia) (Santos *et al.* 2022). La maquinaria de replicación de estos virus no está empaquetada en viriones, lo que hace que la replicación de los PDV sea defectuosa y, por lo tanto, dependa de la avispa para la replicación (Bézier *et al.* 2009; Volkoff *et al.* 2010; Bézier *et al.* 2013; Burke *et al.* 2014; Strand y Burke, 2014). Se cree que la herencia de los PDV permanentemente integrados produce EVE genéticamente únicos, pero relacionados, en cada especie de avispa dentro de los tres clados principales de avispas portadoras de PDV (Whitfield y Asgari, 2003; Burke *et al.* 2021).

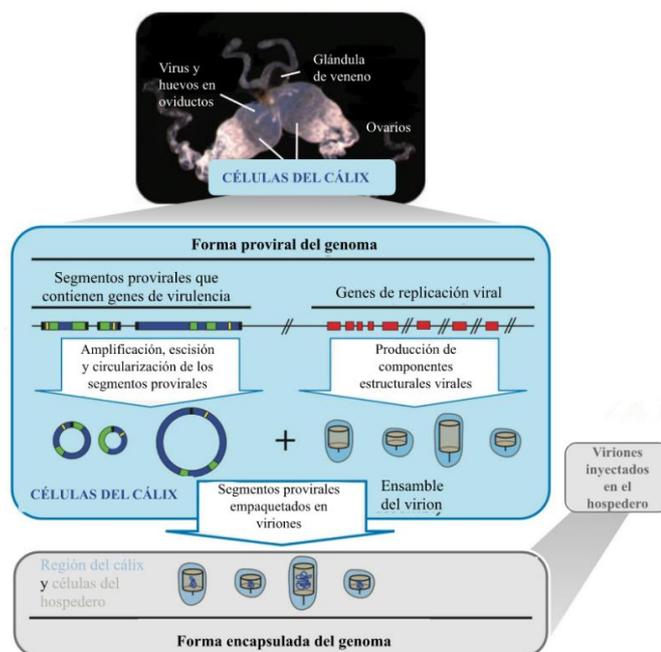


Figura 4. Replicación de Bracovirus. El sistema reproductivo incluye dos ovarios y una glándula de veneno. Las células del cáliz residen entre los ovarios y el oviducto. La replicación en las células del cáliz involucra dos componentes del genoma proviral: la expresión de genes requeridos para la formación del virión (rojo) y, por el otro lado, la amplificación y la formación circular del ADN que contiene los genes de virulencia que se empaquetan en viriones (azul). Los huevos de la avispa y los viriones están almacenados en los oviductos laterales de la avispa (modificado de Strand y Burke, 2014).

Cada polydnavirus de cada especie de avispa persiste durante todas las etapas de su vida y en ambos sexos como un provirus integrado que solo se transmite a la descendencia a través de la línea germinal (Burke y Strand, 2012). En todas las especies estudiadas hasta la fecha, la replicación comienza durante la fase pupal media del desarrollo de la avispa hembra y, por lo general, continúa durante la etapa adulta (Stoltz y Vinson, 1979; Norton y Vinson, 1983; Albrecht *et al.* 1994; Wyder *et al.* 2002). La replicación de los BV da como resultado la acumulación de una gran cantidad de viriones en los núcleos de las células del cáliz (“fluido del cáliz”), lo que luego es seguido por la lisis celular y la liberación de viriones en la luz del cáliz (Burke y Strand, 2012).

En los parasitoides pueden presentarse dos formas de “virus”. La primera es como VLP o partículas similares a virus, que como su nombre lo dice, son partículas estructuralmente similares a los virus, pero carentes de material genético que actúan como sistemas de suministro de factores de virulencia y otras proteínas derivadas de las avispas (Santos *et al.* 2022). Estas moléculas pueden originarse como una adaptación funcional derivada directamente del metabolismo de los organismos eucariotas (en cuyo caso no constituyen EVE) o de la captura genómica de virus antiguos con la consiguiente pérdida del

ADN empaquetado (Santos *et al.* 2022). La segunda forma viral son los polydnavirus, que son grandes virus de ADN de doble cadena cuyo genoma empaquetado se compone de múltiples moléculas de ADN circular (segmentos) que codifican genes de virulencia (Santos *et al.* 2022).

La interacción entre avispas-polydnavirus se da de la siguiente manera: las avispas inyectan PDV en los huéspedes durante la oviposición y estos virus expresan los productos genéticos virales que alteran las defensas inmunitarias del huésped, el crecimiento y el desarrollo para optimizar las condiciones de desarrollo de la descendencia de la avispa (Figura 5) (Burke y Strand, 2012). Los PDV no se replican en el huésped de la avispa porque el genoma encapsulado carece de los genes necesarios para la replicación del ADN viral y la producción de viriones (Burke y Strand, 2012). Dado que los PDV tienen defectos de replicación fuera de las avispas, la transmisión viral depende de la supervivencia de la descendencia de la avispa que porta el genoma de PDV y, por otro lado, dicha descendencia depende del virus para sobrevivir en el insecto huésped, lo que hace que su asociación sea mutuamente beneficiosa (Burke y Strand, 2012). En los casos en donde se administran proteínas (VLP), la maquinaria viral es la que permitirá el suministro de estas proteínas de virulencia a las células inmunitarias (hematocitos) del huésped, lo que también inhibe su respuesta inmunitaria (Reineke *et al.* 2006).

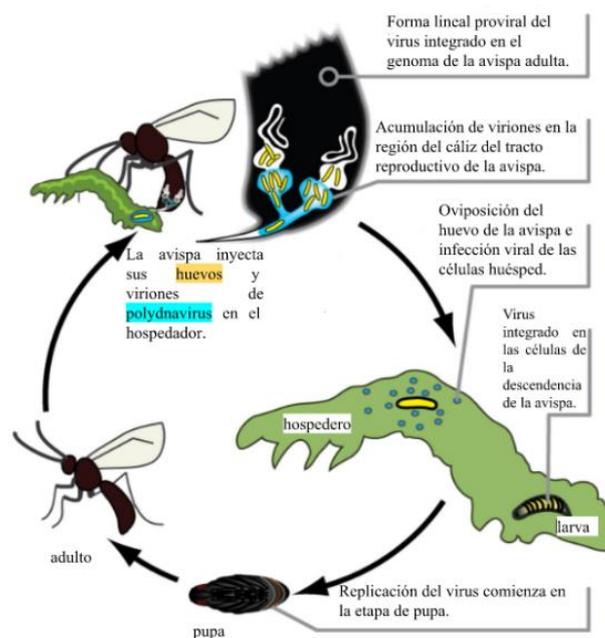


Figura 5. Ciclo de vida de avispas parasitoides y de producción de los polydnavirus (PDV) los cuales se transfieren parasitando a un huésped larvario de lepidóptero (modificado de Burke y Strand, 2012).

Los polydnavirus tienen implicaciones para el control biológico debido a su acción para inhibir la encapsulación del huevo de avispa y manipular el desarrollo del huésped para permitir el desarrollo y la emergencia de las avispas (Beckage, 1998; Herniou *et al.* 2013). Estos virus también son de considerable interés para la investigación básica en virología (Frederici y Bigot, 2003).

Se pueden identificar o verificar la presencia de los EVEs mediante cortes histológicos de ovarios de las avispas o por la búsqueda dirigida de secuencias de genes centrales antiguos en genomas (Santos *et al.* 2022). Los genes centrales antiguos son loci que codifican componentes de replicación que resultan ser comunes con la mayoría de las familias de virus de ADN de doble cadena que infectan insectos (Burke *et al.* 2021).

Microbiota de los insectos

Los insectos son el clado animal más diverso y abundante en cuanto a número de especies a nivel mundial, en hábitos ecológicos y en biomasa (Basset *et al.* 2012). La diversificación y el éxito evolutivo de esta clase han dependido en gran parte de sus innumerables relaciones con microorganismos beneficiosos (Engel y Moran, 2013; Ramírez-Ahua, 2019). De hecho, autores como Rajopal (2009), Basset *et al.* (2012) y Krishnan (2014) mencionan que la microbiota asociada a insectos está estimada en ser hasta diez veces mayor que el total de células del propio insecto, y que contiene un número de genes microbianos 100 veces mayor al de todos los genes animales. Es sabido que la microbiota contribuye a diversos aspectos de la fisiología del huésped, tales como mejorar la obtención de nutrientes, ayudar a la digestión de componentes alimenticios recalcitrantes, proteger de depredadores, parásitos y patógenos, afectar la eficiencia como vectores de enfermedades, influenciando en los sistemas reproductivos y de apareamiento, entre otros (**Figura 6**) (Engel y Moran, 2013; Ramírez-Ahua *et al.* 2019).

La microbiota en los insectos también contribuye a su tolerancia ante perturbaciones ambientales (Engel y Moran, 2013), resistencia a insecticidas (Oliver *et al.* 2003) y contribuyen a su longevidad (Behar *et al.* 2008). Sin embargo, estos microorganismos también pueden ser patógenos, reduciendo la viabilidad y causando morbilidad (Gurung *et al.* 2019). Además, al albergar endosimbiontes pueden incurrir costos fisiológicos en los insectos (Krams *et al.* 2017). Por ejemplo, *Wolbachia*, un género de bacterias que se transmite sexualmente y se hereda a través de la línea femenina, el cual está muy extendido en la clase Insecta (Werren y Windsor, 2000) y causa un fuerte sesgo en la proporción sexual de las

especies de insectos que las presentan (Huber, 2017).

Actualmente, la microbiota de insectos se investiga para: el desarrollo de nuevas estrategias para el control de plagas y el manejo de enfermedades vectores de insectos (Beard *et al.* 2001; Sánchez-Contreras y Vlisidou, 2008; Hoffmann *et al.* 2011; Berasategui *et al.* 2015), y como fuente de moléculas para aplicaciones biotecnológicas (Chaves *et al.* 2009; Ramadhar *et al.* 2013), como enzimas para conversión de biomasa (Watanabe y Tokuda, 2010; Vilanova *et al.* 2012), moléculas bioactivas de antimicrobianos e insecticidas (Piel, 2009; Zucchi *et al.* 2010) y moléculas para manipular el comportamiento de los insectos (Boone *et al.* 2008; van Houte, 2013), entre otros (de Almeida *et al.* 2017).

El uso de avances recientes en biología molecular y la aplicación de tecnologías de secuenciación de nueva generación a la ecología microbiana han demostrado que la diversidad en las poblaciones microbianas es significativamente mayor que la estimada previamente por métodos moleculares convencionales y basados en cultivos tradicionales, los cuales no pueden estimar la diversidad enmascarada por microorganismos dominantes (Sogin *et al.* 2006). El análisis completo de la diversidad bacteriana dentro de una especie huésped es un requisito previo tanto en la fisiología de los insectos como en la ecología microbiana para permitir una mejor comprensión de las funciones ecológicas de los organismos simbioses, como bacterias, y las interacciones con sus insectos huéspedes (Yun *et al.* 2014).

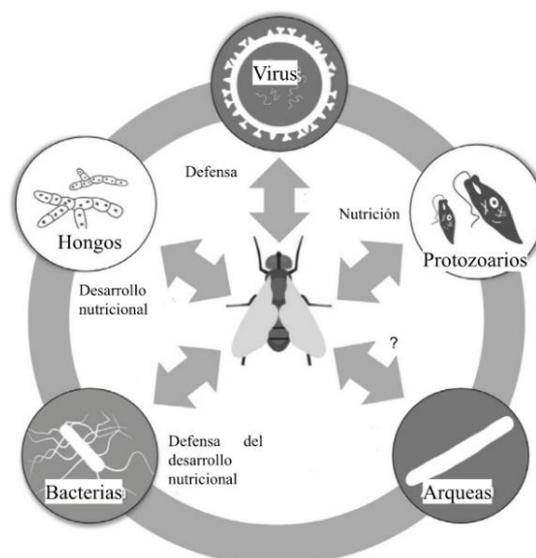


Figura 6. Microbioma asociado a insectos. El círculo gris y las flechas representan la conectividad que tienen los grupos microbianos con su anfitrión. Todos estos microorganismos, ya sea individualmente o juntos, pueden afectar la biología del insecto (tomado y modificado de Gurung *et al.* 2019).

Clase Insecta

El grupo de insectos cuenta con más de un millón de especies formalmente descritas, constituyendo entre el 61-71% de la biodiversidad mundial conocida (Adler y Foottit, 2009; 2017). No obstante, se ha sugerido que sólo el 20% de los insectos han sido nombrados o catalogados taxonómicamente (Scudder, 2017), y se estima que existen entre dos y 80 millones de especies (Stork, 1993; Toro *et al.* 2003; Erwin, 2004). Los miembros de la clase Insecta están clasificados en 29 órdenes, aunque cinco de estos órdenes (Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Hemiptera y Lepidoptera) representan más del 80% de todas las especies descritas de insectos vivos (Adler y Foottit, 2017).

La clase Insecta debe su gran riqueza de especies a su variada biología, unida a una larga historia evolutiva de más de 400 millones de años, así como mínimas afecciones debido a extinciones en masa (Amat-García y Fernández, 2011). Además, existen otros factores a los que se les atribuye su éxito adaptativo, tales como; su tamaño pequeño, que les permite vivir en muchos tipos de hábitats; gran capacidad reproductiva; ciclos de vida cortos, que les confiere la posibilidad de una mayor adaptación en comparación con otros animales; exosqueleto liviano, resistente e impermeable; alas, que les permiten desplazarse más fácilmente y tener una mayor vagilidad, es decir la posibilidad de dispersarse para colonizar diversos hábitats; así como la diversidad y especialización de estructuras como: piezas bucales, formas de respiración y tipos de patas modificadas (Daly *et al.* 1998; Apablaza, 2000; Gullan y Cranston, 2010).

Los insectos son un grupo de importancia ecológica, evolutiva y económica, esto último ha permitido que este grupo se haya utilizado en estudios de referencia biomecánica, cambio climático, biología del desarrollo, ecología, evolución, genética, paleolimnología y fisiología, entre otros (Adler y Foottit, 2017). Por ejemplo, sirven como facilitadores de interacciones interespecíficas a través de la foresis, la transmisión de organismos patógenos, la polinización, la dispersión de semillas, la alteración de la estructura del microhábitat por tunelización y anidación (Miller, 1993) y mantienen la estructura y la fertilidad del suelo (Majer, 1987). Los insectos del suelo son esenciales para el mantenimiento de ecosistemas agrícolas saludables y productivos (Cock *et al.* 2012), puesto que eliminan productos de desecho y organismos muertos (descomponedores y detritívoros), consumen y reciclan material vegetal vivo (Adler y Foottit, 2017). También son de gran importancia como fuente de alimento para diversos depredadores (Carpenter, 1928), como control biológico y como una importante fuente suplementaria de calorías y proteínas para los seres humanos en muchas regiones del mundo (DeFoliart, 1999).

Orden Hymenoptera

El orden Hymenoptera incluye a las abejas, avispas, hormigas y avispa sierra (Chapman *et al.* 2012), son uno de cinco órdenes megadiversos de insectos, para los cuales se han descrito más de 153 mil especies, aunque se estima que su riqueza podría ser cuatro veces mayor, pudiendo ser el orden de insectos con más riqueza específica (Forbes *et al.* 2018). Los himenópteros son insectos con dos pares de alas membranosas (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012) cuyas principales características son ser insectos holometábolos haplodiploides con piezas bucales masticadoras y que carecen de élitros (Nieves-Aldrey *et al.* 2006).

El éxito de los himenópteros para desenvolverse en medios terrestres se puede explicar por la evolución de cuatro caracteres o rasgos de comportamiento biológico que han sido cruciales en su éxito evolutivo: 1) el mecanismo de oviposición, utilizado tanto para la puesta como para la inyección de veneno, 2) la provisión parental de la larva huésped, que es la localización de fuente de alimento sobre o en el interior de la cual se depositan los huevos; 3) la diversificación de la dieta larval, y 4) la determinación haplodiploide del sexo (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012). El conjunto de estos mecanismos biológicos ha desembocado en el desarrollo de una gran variedad de estrategias y ciclos de vida, que incluyen el parasitismo, y sus diversas estrategias, la inducción de agallas, el consumo de semillas, la polinización de plantas, la depredación y la formación de sociedades complejas (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012).

Los miembros del orden Hymenoptera, tanto los existentes como los extintos, se clasifican en dos subórdenes: Symphyta y Apocrita (Ronquist, 1999; Davis *et al.* 2010) (**Figura 7**). El suborden Symphyta, agrupa a las avispas o moscas sierra, que tienen alas con venación completa, son generalmente fitófagos (Sharkey, 2007; Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012) y son reconocibles fácilmente por carecer de estrechamiento entre el tórax y el abdomen (“cintura de avispa”) (Nieves-Aldrey *et al.* 2006; Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012) (**Figura 7A**). Este suborden contiene a los grupos de himenópteros de más temprana divergencia y comprenden casi el 5% de los himenópteros existentes (Huber, 2017). El suborden Apocrita es un grupo monofilético que contiene 21 superfamilias que incluyen al 96% de los himenópteros (**Figuras 7B y 8**) (Huber, 2017). Este suborden se ha dividido tradicionalmente en dos grandes grupos, Parasitica y Aculeata, aunque el primero no es monofilético ya que los Aculeata evolucionaron a partir de grupos de Parasitica (Blaimer *et al.* 2023). Una de las superfamilias de Parasitica es Ichneumonoidea, la cual contiene a las dos familias más ricas en especies del orden: Ichneumonidae y Braconidae (Wharton *et al.* 1998).

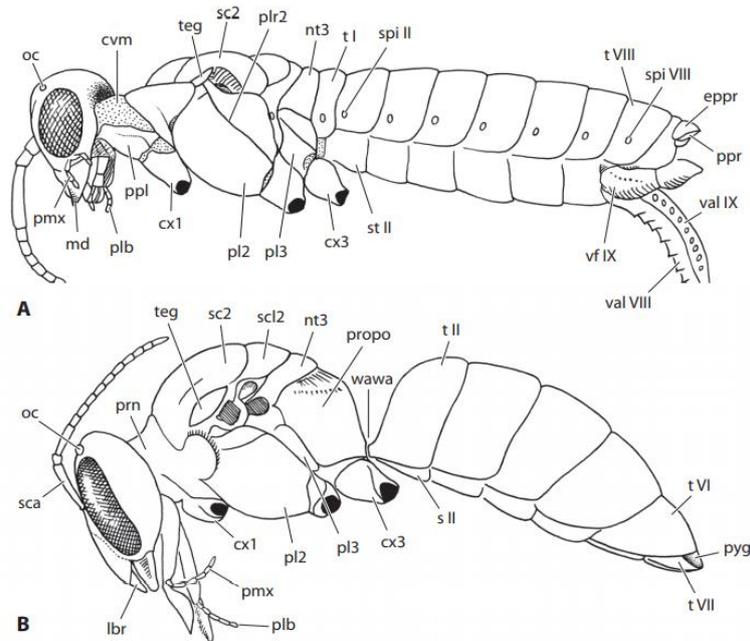


Figura 7. Diferencias corporales entre un organismo perteneciente a Symphyta (A) y uno perteneciente a Apocrita (B). A) Tenthredinidae, hembra, generalizada; B) *Melitta* sp. (Apidae). cvm=membrana cervical, cx1=procoxa, cx3=metacoxa, eppr=epiprocto, lbr=labro, md=mandíbula, nt3=metanotum, oc=ocelo, plb=palpo labial, pl2=mesopleuron, pl3=metapleuron, plr2=cresta pleural mesotorácica, pmx=palpo maxilar, ppl=propleura, ppr=paraprocto, prn=pronoto, propo=propodeo (= tergum abdominal I), pyg=pygidium, sca=escapo, sc2=mesoscutum, scl2=mesoscutellum, spiII/VIII=espiráculos abdominales II/VIII, sII=esternón II, teg=tégula, tI/II/VI/VII/VIII=tergum I/II/VI/VII/VIII, valVIII / IX=valvulae VIII/ IX, vfIX=valviver IX; wawa=cintura de avispa (tomado de Beutel *et al.* 2013).

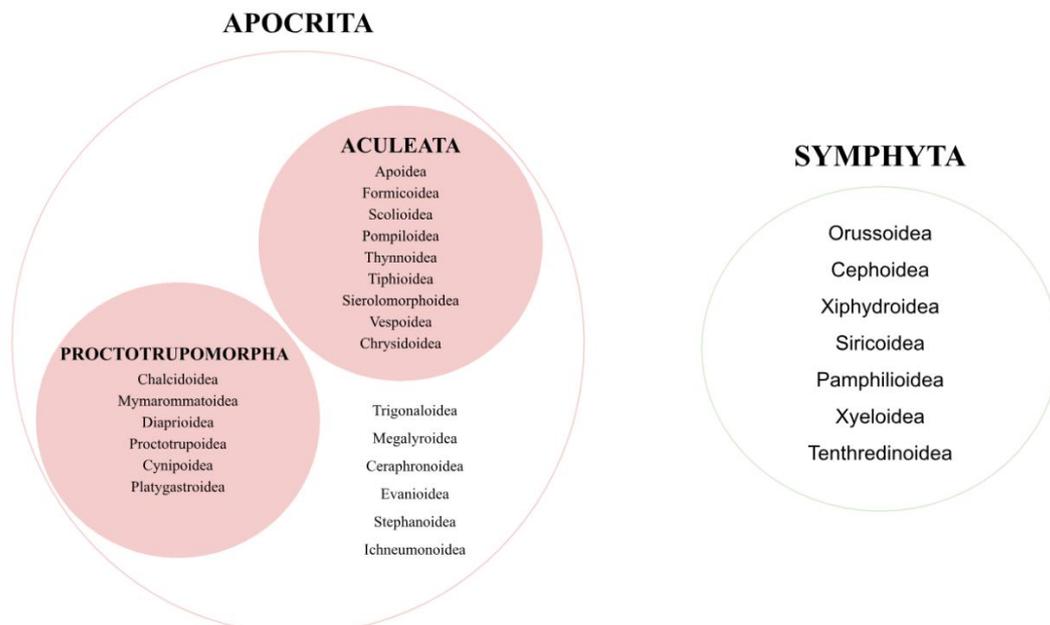


Figura 8. Superfamilias pertenecientes a los subórdenes Apocrita y Symphyta. Apocrita se subdivide en Proctotrupomorpha y Aculeata (Peters *et al.* 2017; Blaimer *et al.* 2023).

Parasitoidismo en Hymenoptera

Se le denomina parasitoide a todo insecto que en estado larvario es parásito de otro artrópodo, el huésped, mientras que en estado adulto vive libremente y, en la mayoría de los casos, al momento de hacer su metamorfosis termina matando al huésped (Bernal, 2007). Otras características importantes de los parasitoides, que los diferencian de los parásitos en sentido estricto, son que típicamente solo parasitan y consumen (matan) a un único huésped durante todo su ciclo de vida, su tamaño es similar al del huésped, poseen un ciclo de vida relativamente simple y pertenecen a un grupo taxonómico afín al de su huésped (comúnmente ambos son insectos) (Bernal, 2007). Las estrategias y los comportamientos de los himenópteros parasitoides son muy variadas, sin embargo, todas consisten en: 1) la búsqueda activa y dirigida de huéspedes por la hembra parasitoide adulta, 2) una vez localizado éste, la oviposición se puede dar sobre, cerca, o dentro del huésped, una vez localizado éste, y 3) el desarrollo de la larva parasitoide a partir del consumo parcial o total del huésped, seguido de la emergencia del parasitoide adulto (Bernal, 2007). El éxito evolutivo de los parasitoides se debe a un gran número de atributos etológicos, fisiológicos y anatómicos que les dan las ventajas frente a organismos con estilo de vida distintos, resaltan tres atributos que contribuyen significativamente: ovopositor apendicular, abdomen peciolado y determinación haplo-diploide (Bernal, 2007).

Se han hecho diversas clasificaciones para poder estudiar a los parasitoides, como; la división entre ecto y endoparasitoidismo, el parasitoidismo solitario o gregario, y las estrategias idiobionte o koinobionte, entre otras (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012). La koinobiosis es la estrategia en donde las hembras inyectan el veneno en el huésped y lo paralizan temporalmente, permitiendo así que este continúe alimentándose por un tiempo y usualmente llegue al proceso de muda (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014). Por otra parte, en la idiobiosis el huésped es paralizado de forma permanente, lo que impide su desarrollo posterior. Luego de la paralización, la hembra deposita uno o varios huevos dentro (endoparasitoides) o sobre el huésped (ectoparasitoides) (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014).

Los parasitoides han desarrollado adaptaciones para localizar a sus presas, incluso si éstas viven en el interior de galerías excavadas en troncos de madera (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012). Igualmente, muchos parasitoides tienen la peculiaridad de inocular virus en sus huéspedes con el fin de destruir su sistema inmune (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012). Las comunidades de parasitoides se cuentan entre las más importantes desde el punto de vista ecológico, ya que forman parte de los grupos de organismos terrestres con mayor riqueza de

especies y se encargan de regular las poblaciones de los huéspedes, por lo que el conocimiento de la estructura de las comunidades de parasitoides y el de los factores que determinan su riqueza es esencial para la comprensión de la diversidad de las comunidades terrestres, para la conservación de los ecosistemas y para la regeneración de ambientes alterados (Nieves-Aldrey y Sharkey, 2012).

El parasitoidismo por lo tanto ha tenido gran éxito evolutivo. Esto último se ve reflejado en el número de taxones que han adoptado este estilo de vida, por ejemplo, hasta el año 2007, algunos recuentos indicaban que existían unas 68 mil especies descritas de estos organismos en siete órdenes de Insecta (casi el 80% de estas especies corresponden a Hymenoptera), lo que equivale al 8.5% de todas las especies insectiles descritas; además, se estima que pueden existir entre 1.6 y 2 millones de especies parasitoides, considerando especies por descubrir (Godfray, 1994; Quicke, 1997; Bernal, 2007).

Superfamilia Ichneumonoidea

Ichneumonoidea comprende actualmente a dos familias: Braconidae e Ichneumonidae (Jasso-Martínez *et al.* 2022a, b). Algunas diferencias morfológicas entre estas familias se encuentran resumidas en la **Tabla 2** y esquematizada en la **Figura 9**. Esta superfamilia es, por mucho, la más rica en especies dentro de Hymenoptera (cerca del 33% del total del orden), con aproximadamente de 48,000 especies descritas en alrededor de 3,000 géneros y el 3% de toda la vida conocida (Chapman, 2009; Yu *et al.* 2016; Sharanowski *et al.* 2020; Quicke *et al.* 2020).

A la fecha se han propuesto seis sinapomorfías morfológicas para la superfamilia Ichneumonoidea: 1) mandíbula de los adultos con dos dientes, 2) prepectus fusionado a la parte posterior del pronoto, 3) primer segmento metasómico dividido en una parte anterior esclerotizada y una parte posterior membranosa (Mason, 1981), 4) primer terguito metasomal articulado al tergum 2+3 por un par de cóndilos posterolaterales, 5) venas costales+subcostales y radiales del ala anterior adyacentes y adpresas (es decir, formando una venación C+SC+R más o menos unificada), y (6) ala trasera con una sola vena cruzada (r-m). Sin embargo, los caracteres morfológicos anteriores de Ichneumonoidea no son consistentes en todos sus miembros, por lo que los datos de la secuenciación de ADN resultan decisivos en apoyar su monofilia (Quicke, 2015).

Tabla 2. Resumen de las diferencias morfológicas entre Braconidae e Ichneumonidae (tomado de Quicke, 2015; Quicke *et al.* 2020).

Carácter	Braconidae	Ichneumonidae
Vena cruzada del ala delantera 2m-cu.	Casi siempre ausente, pero presente en Apozyginae y raramente teratológicamente en Histeromerinae, Rhyssalinae y Helconinae.	Casi siempre presente, pero ausente en Hybrizontinae y algunas tersiloquinas, criptinas y anomaloninas.
Vena transversal del ala trasera r-m	Casi siempre antefurcal, pero prácticamente intersticial en Trachypetidae.	Casi siempre posfurcal, rara vez casi intersticial (Hybrizontinae, Tersilochinae: Neorhacodini).
Vena del ala trasera C+SC+R	Fusionada en toda su longitud excepto Trachypetidae.	Las venas C+SC y R se separan pero corren en estrecha paralela desde cerca de la base del ala.
Unión entre placas dorsales de los segmentos metasomales 2 y 3.	Inflexible con sutura, si está presente, fuertemente esclerotizado, en Aphidiinae.	Unidos de manera flexible.

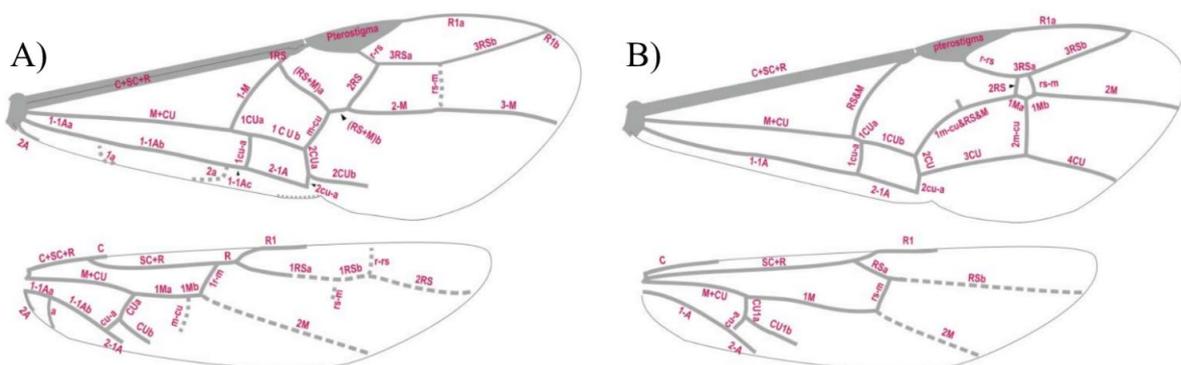


Figura 9. Esquematación de la venación alar de A) Braconidae e B) Ichneumonidae. C: costa; SC: subcostal; R: radius; SR: sector radialis; M: medius; CU: cubitus; A: anal (tomado de Quicke, 2015).

Familia Braconidae

Braconidae representa la segunda familia de mayor riqueza taxonómica del orden Hymenoptera con más de 20 mil especies descritas, aunque se estima que existan unas 40,000 especies (Townes, 1969; Gauld y Bolton, 1988; Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014; Quicke, 2015) distribuidas en 41 subfamilias (Jasso-Martínez *et al.* 2022b). Estas avispas atacan principalmente a larvas de otros insectos holometábolos (Shaw y Huddleston, 1991;

Quicke, 1997), aunque también se conocen huéspedes de otros órdenes (Schuster y Wharton, 1993). Sin embargo, dentro de este grupo también hay especies fitófagas formadoras de agallas en las subfamilias Doryctinae, Braconinae y Mesostoinae (Wharton y Hanson, 2005).

Los braconidos son una familia de avispas parasitoides que habitan en casi todos los ecosistemas terrestres, aunque su diversidad es mayor en los trópicos (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014). El tamaño de estos organismos varía de 1 a 30 mm, pero la mayoría mide menos de 10 mm (Coronado-Blanco y Zaldívar-Riverón, 2014). Los braconidos se reconocen por varias características morfológicas, tales como la presencia de tergos metasomales 2 y 3 fusionados, ala anterior con vena transversa 2m-cu ausente (con excepción de la especie chilena *Apozyx penyai* Mason), con la vena Rs+M separando las celdas 1M y 1R1, y ala posterior con vena 1r-m basal a la separación de las venas R1 y Rs (Campos y Sharkey, 2006; Sarmiento, 2012).

Tradicionalmente, Braconidae se ha dividido en dos grupos: los no ciclóstomos, que tienen un clípeo que oculta el labro cóncavo, o si el labro está expuesto es plano o convexo (**Figura 10A**) y los ciclóstomos, que se caracterizan por tener la parte inferior del clípeo muy hundida dejando al descubierto un labro cóncavo (**Figura 10B**) (Sharkey, 1993; Wharton, 1993; Wharton *et al.* 1997). Estos grupos se han recuperado como monofiléticos usando diferentes tipos de evidencia morfológica y molecular (Dowton *et al.* 2002; Sharkey, 1993; Wharton, 1993; Wharton *et al.* 1997; Zaldívar-Riverón *et al.* 2006; Sharanowski *et al.* 2011; Jasso-Martínez *et al.* 2022a, b).

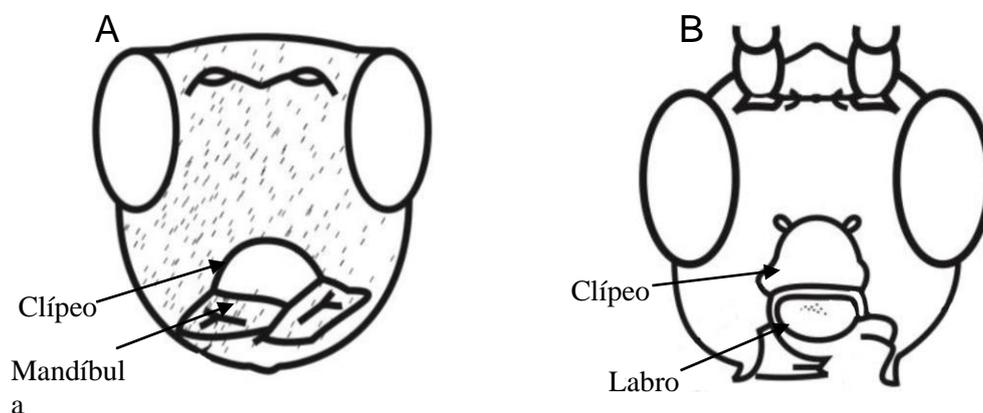


Figura 10. Diferencias morfológicas entre braconidos no ciclóstomos y ciclóstomos. A) Cabeza de un braconido no ciclóstomo que muestra falta de espacio entre el margen inferior del clípeo y las mandíbulas, y labro no expuesto. B) Cabeza de un braconido ciclóstomo que muestra un clípeo retraído, labro cóncavo y expuesto (modificado de Quicke, 2015; Fakhrudin *et al.* 2018).

Subfamilia Rogadinae

Rogadinae es una subfamilia de braconidos perteneciente al clado ciclóstomo que agrupa a más de 1,200 especies en 68 géneros actualmente reconocidos, representando todas las tribus y subtribus (Yu *et al.* 2016; Quicke *et al.* 2021). Además, comprende un grupo de avispas cosmopolitas y muy ricas en especies endoparasitoides koinobiontes exclusivas de larvas de lepidópteros (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008; Jasso-Martínez *et al.* 2021). Morfológicamente se pueden reconocer por tener una carina media en el primer terguito metasomal, la base triangular del segundo tergo metasomal, así como su carina media en el mismo tergo (van Achterberg, 1993; Farahani *et al.* 2015).

Entre los rogadinos existe una considerable heterogeneidad morfológica, lo que en parte ha impedido el descubrimiento de características diagnósticas consistentes tanto para el grupo en su conjunto como para sus tribus (Shaw y Huddleston, 1991). Por ejemplo, hasta hace relativamente poco tiempo, los betylobraconinos habían sido considerados como una subfamilia independiente dentro de Braconidae (Tobias, 1988; van Achterberg, 1993, 1995). Sin embargo, recientemente y con base tanto en morfología como en información molecular, este grupo se recuperó consistentemente al interior de Rogadinae (Butcher *et al.* 2014; Jasso-Martínez *et al.* 2021) sugiriendo entonces que la subfamilia Rogadinae se divide en seis tribus: Aleiodini, Clinocentrini, Betylobraconini, Rogadini, Yeliconini y Stiropiini (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008; Quicke y Butcher, 2015; Jasso-Martínez *et al.* 2021) (**Figura 11**).

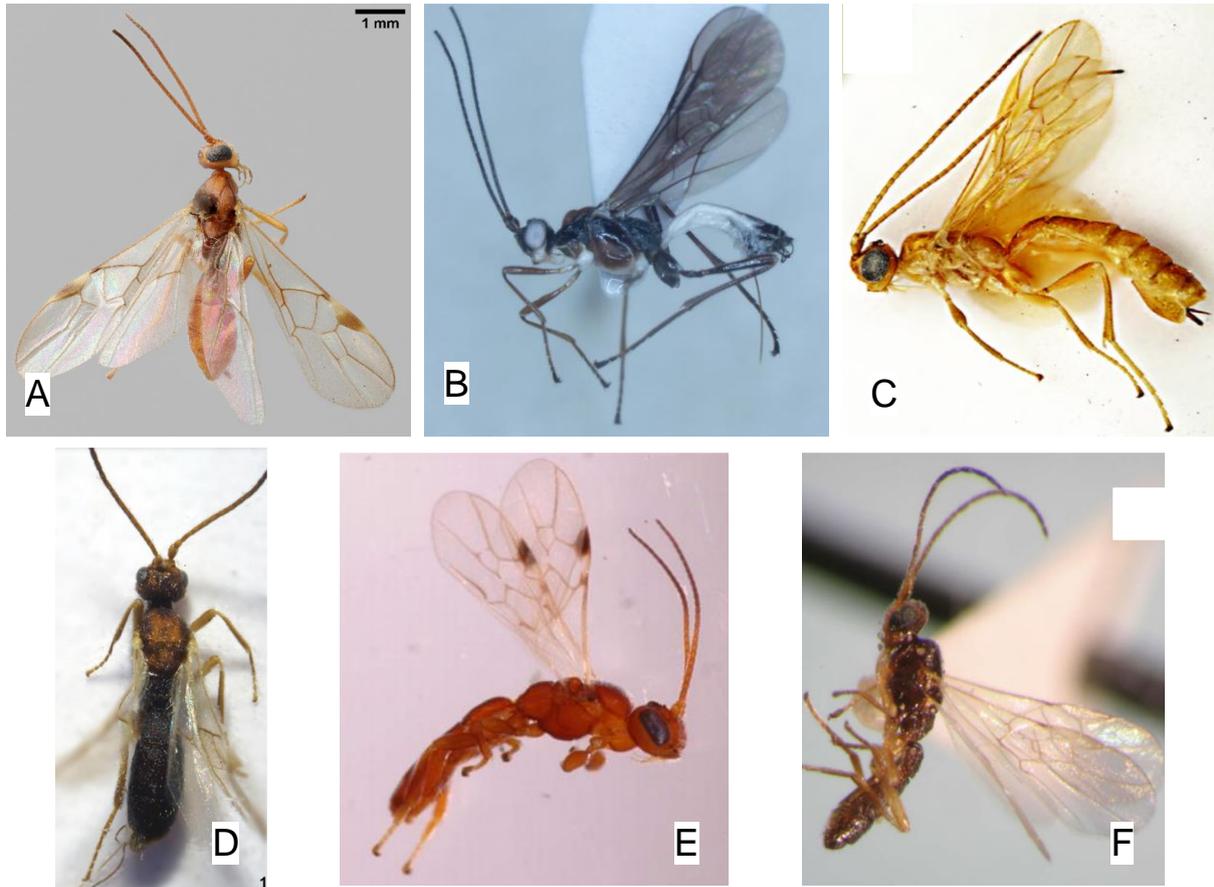


Figura 11. Fotografías de especies de la subfamilia Rogadinae. A. Aleiodini: *Aleiodes gastritor* (tomado de Richard, s.f). B. Clinocentrini: *Kerevata jamesmayi* sp. nov. (tomado y modificado de Butcher y Quicke, 2014). C. Rogadini: *Colastomion gregarius* Quicke, sp. (tomado y modificado de Quicke *et al.* 2012). D. Betylobraconini: *Gondwanocentrus humphriesi* gen. et sp. nov. (tomado y modificado de Quicke y Butcher, 2015). E. Yeliconini: *Yelicones fisheri* Areekul y Quicke (tomado y modificado de Zaldívar-Riverón *et al.* 2008). F. Stiropiini: *Stiropius bucculatricis*, Ashmead (tomado y modificado de Zaldívar-Riverón *et al.* 2008).

La única posible sinapomorfía conocida para los miembros de Rogadinae es la capacidad de momificar a sus huéspedes (**Figura 12**). En esta estrategia el huésped que ha sido parasitado continúa con su desarrollo por un tiempo, después su pupa se endurece y adquiere un aspecto seco (*i.e* momificado), a partir de la cual el parasitoide emerge como adulto (Shaw 2002b, 2006; Shaw y Huddleston, 1991). Esta característica permite un fácil reconocimiento cuando los parasitoides se crían a partir de sus huéspedes (van Achterberg, 1991; Maetô y Arakaki, 2005; Quicke *et al.* 2012).

Se ha observado que el nivel de endurecimiento de la momia varía entre las tribus de Rogadinae. Por ejemplo, las momias producidas por especies de Aleiodini son duras y muy doradas, y las avispas siempre salen de la parte posterodorsal de los restos del huésped, mientras que los miembros de Rogadini inducen una variedad de momias con endurecimiento débil, moderado o fuerte, y los adultos emergen de la pupa modificada utilizando varias orientaciones radiales, pero a menudo desde el extremo anterior de la momia huésped (Shaw,

2002a; Maetô y Arakaki, 2005; Quicke y Shaw, 2005). Las otras tribus para las que se conoce la estrategia de momificación son Clinocentrini (*Clinocentrus* Haliday) (Shaw, 1983), Stiropiini (*Choreborogas* Whitfield, *Stiropius* Cameron) (Whitfield y Wagner, 1991) y Yeliconiini (*Yelicones*, *Pseudoyelicones*) (Quicke y Kruft, 1995). Todas estas tribus, generalmente, producen momias blandas y poco esclerotizadas (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008), pero el género *Yelicones* incluye especies que forman ambos tipos de momias (Zaldívar-Riverón *et al.* 2008; Quicke *et al.* 2018).

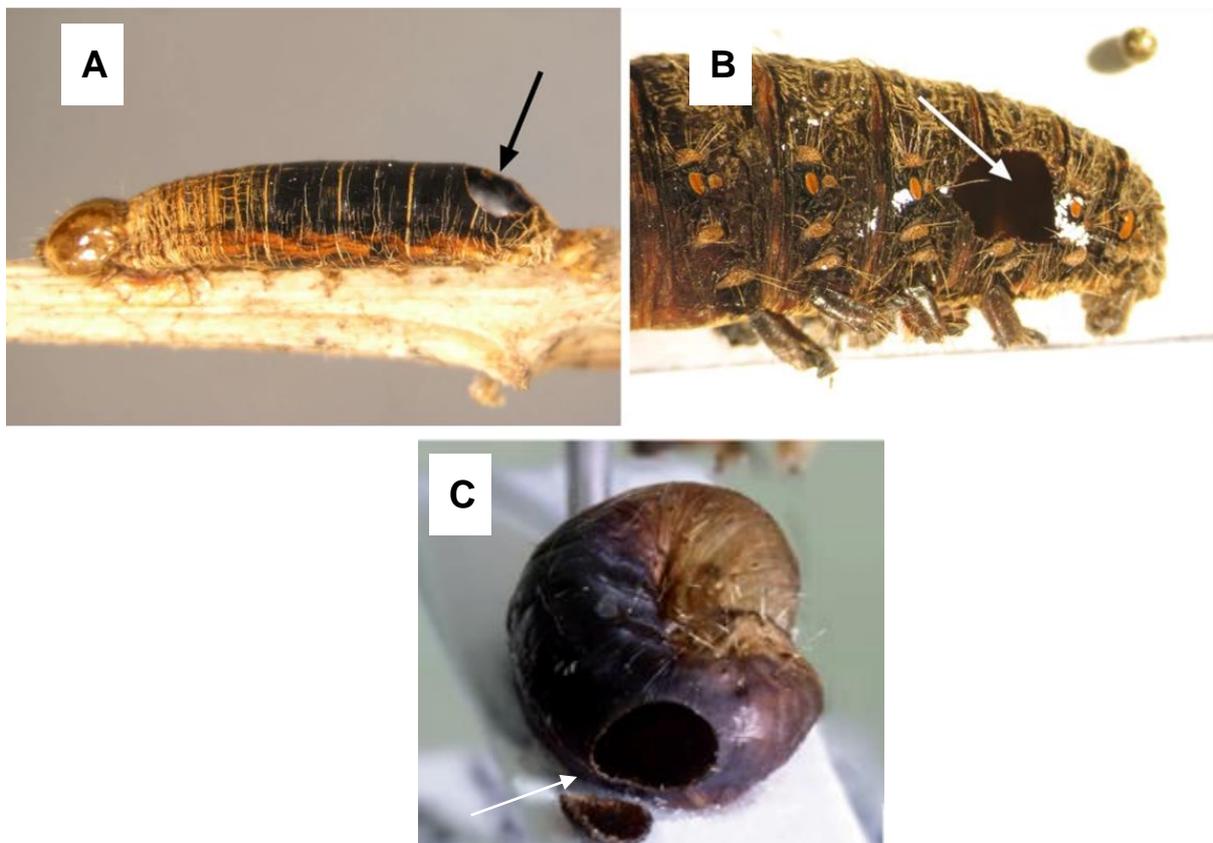


Figura 12. Fotografías que muestran la variedad de tipos de momias de lepidópteros entre las tribus pertenecientes a la subfamilia Rogadinae. Las flechas indican los “agujeros de emergencia”. A, *Aleiodes* (*Aleiodes*) sp. cerca de *borealis* (Thomson), ex noctuido (tomado y modificado de Zaldívar-Riverón *et al.* 2008). B, *Cystomastax* sp., Ex Arctiidae (tomado y modificado de Zaldívar-Riverón *et al.* 2008). C, *Yelicones iranus* y su huésped momificado *Ph. diaphana* (modificado de Quicke *et al.* 2018).

Técnicas de secuenciación masiva

La secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés) es un grupo de tecnologías diseñadas para secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN de forma masiva y en paralelo, en menor cantidad de tiempo y a un menor costo por base (Green y Guyer, 2011; Lander, 2011). Esto permite que muchos procesos biológicos y ecológicos que anteriormente no podían ser abordados, puedan ser estudiados a través de la secuenciación de

genomas y transcriptomas o del genotipado masivo de individuos (López de Heredia, 2016).

Desde el punto de vista del estudio de la diversidad biológica, la secuenciación de nueva generación permite, entre otras aproximaciones, obtener de manera relativamente sencilla un gran número de marcadores genéticos en especies no modelo (en número mucho mayor que por las técnicas tradicionales) para estudios filogenéticos, de diversidad y de mapeo genético (Baird *et al.* 2008; Davey *et al.* 2011). En adición a las ventajas ya mencionadas, las técnicas de NGS no necesitan clonar el ADN con bacterias, pues las plataformas de secuenciación trabajan con librerías genómicas preparadas en sistemas libres de células (López de Heredia, 2016). Sin embargo, la secuenciación masiva también presenta una serie de limitaciones que van superándose conforme se desarrollan nuevas mejoras tecnológicas. Una de las mayores limitaciones es el manejo del elevado volumen de datos generado en cada experimento (Zhao *et al.* 2013) que requiere un cierto manejo de técnicas bioinformáticas avanzadas y de una adecuada infraestructura computacional, que no siempre está al alcance de los grupos de investigación (López de Heredia y Vázquez-Poletti, 2016). Asimismo, generalmente hay una ausencia de bases de datos y recursos “ómicos” para especies no modelo, que dificultan el análisis para investigadores no especializados (López de Heredia, 2016).

Frente a la secuenciación tradicional por el método de Sanger *et al.* (1977), considerado de primera generación, se desarrollaron a finales de la década pasada las plataformas de secuenciación de segunda y tercera generación, también conocidas como plataformas de secuenciación masiva (**Figura 13**) (López de Heredia, 2016). Aparte de las diferencias en la metodología para diseñar las bibliotecas genómicas que se van a secuenciar y en los fundamentos de cada técnica para obtener las secuencias de nucleótidos, existe una división entre plataformas de secuenciación masiva en función de la longitud de las lecturas (*i.e.* el número de pares de bases de cada lectura) que generan, de manera que se habla de plataformas de lecturas largas (>300 pb) y de lecturas cortas (<300 pb) (van Dijk *et al.* 2014). La longitud de lectura es una de las principales variables y limitaciones que se deben tener en cuenta a la hora de diseñar los experimentos. Una longitud de lecturas corta implica necesariamente el mapeo a un genoma de referencia o el ensamblaje *de novo* de dichas lecturas, mientras que las lecturas largas implican una mayor tasa de error en la identificación de los nucleótidos (Liu *et al.* 2012). A lo largo de los últimos años, las plataformas de lecturas cortas han ido consiguiendo un incremento progresivo en la longitud de lectura (>250 pb en lecturas cortas) manteniendo la baja tasa de error (0.01%), mientras que las plataformas de lecturas largas han conseguido reducir el error (10-40%), llegando a conseguir

la secuenciación de moléculas completas, *e.g.* de ARN mensajero (López de Heredia, 2016). Estos avances metodológicos abren la puerta a la consecución de resultados más robustos, incluso con el uso combinado de distintas plataformas (López de Heredia, 2016).

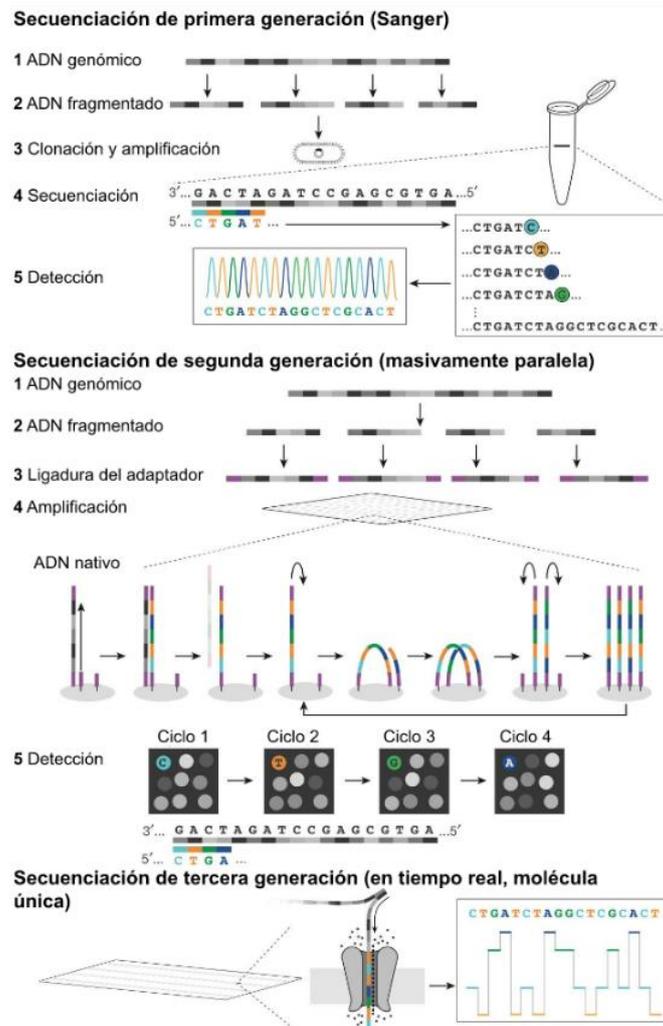


Figura 13. Tecnologías de secuenciación de ADN. Se muestran ejemplos esquemáticos de secuenciación de primera, segunda y tercera generación (modificado de Shendure *et al.* 2017).

Las técnicas que se benefician de la secuenciación masiva deben abordar necesariamente dos fases: la fase de laboratorio y la fase bioinformática (**Figura 14**) (López de Heredia, 2016). La fase de laboratorio consiste en la construcción de bibliotecas genómicas de acuerdo con la técnica a usar, seguida de la subsiguiente secuenciación de dichas bibliotecas en una plataforma de secuenciación, en donde la metodología para construir las bibliotecas es específica de cada técnica (López de Heredia, 2016). La fase bioinformática comprende el análisis de los ficheros de lecturas generados por las distintas plataformas de secuenciación masiva (López de Heredia, 2016).

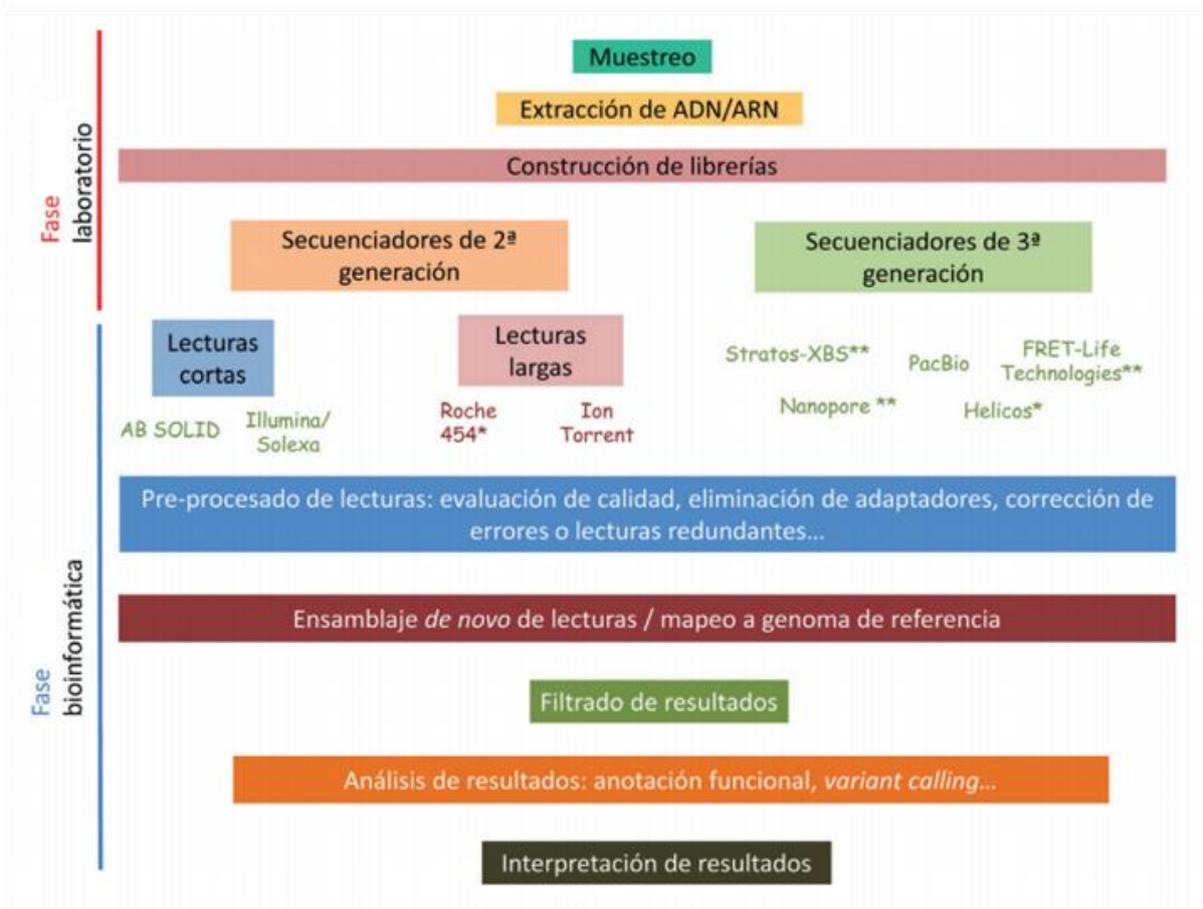


Figura 14. Esquema general de los procesos para llevar a cabo un experimento de secuenciación masiva (modificado de López de Heredia, 2016).

Una de las técnicas de secuenciación masiva más usadas es la técnica de Shotgun que consiste en romper el genoma en pequeños fragmentos de ADN que se ordenan de forma individual para que después bioinformáticamente se busquen coincidencias en las secuencias de ADN que utilizarán para colocar los fragmentos individuales en el orden correcto para reconstruir el genoma o algún fragmento genético (**Figura 15**) (NHGRI, 2020).

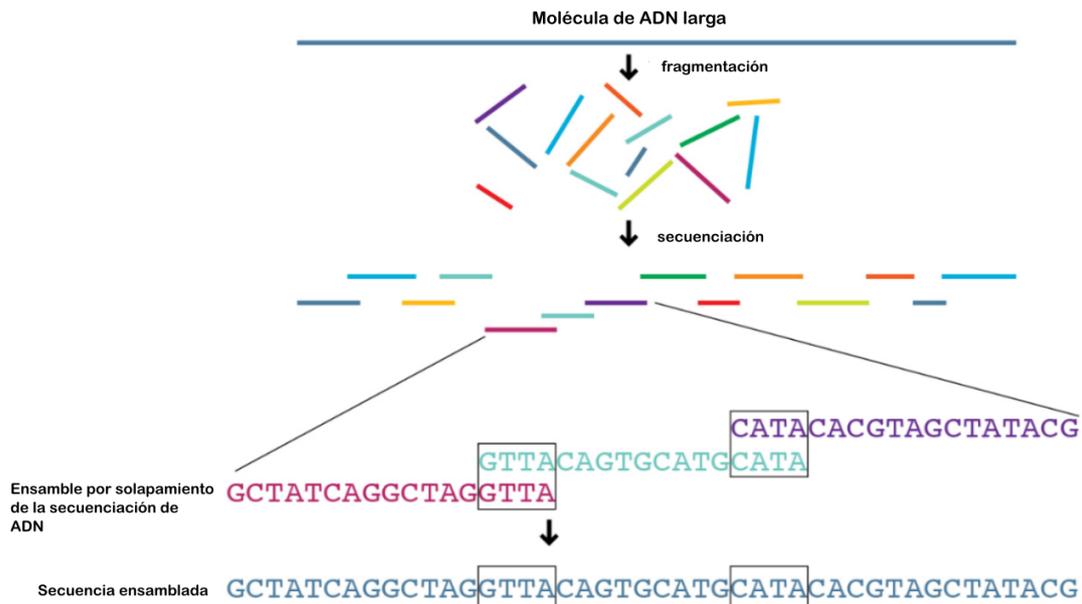


Figura 15. Secuenciación Shotgun (modificado de NHGRI, 2020).

Herramientas bioinformáticas para la búsqueda de EVEs

Los enfoques bioinformáticos innovadores pueden conducir al descubrimiento viral a través de búsquedas dirigidas de genes centrales antiguos en el genoma, que son los más comúnmente encontrados en todos los virus de ADN de doble cadena conocidos (Burke *et al.* 2021; Santos *et al.* 2022). Para poder detectar la presencia o ausencia de genes virales antiguos en el genoma de avispas, es necesario usar búsquedas que sugieran homologías de secuencias, centrándose en patrones de sitios conservados entre secuencias de proteínas (Burke *et al.* 2021). Un ejemplo de esto último son las búsquedas mediante estrategias complementarias, como lo son HMMER y el algoritmo PSIBLAST.

HMMER es un software que busca secuencias homólogas en bases de datos para realizar alineamientos de secuencias implementando modelos probabilísticos llamados modelos de perfil ocultos de Markov (HMM) (Eddy, 2020). HMMER usa estos perfiles para anotar nuevas secuencias (Eddy, 2011). La base de datos para hacer los alineamientos en la que se basa HMMER es regularmente Pfam, aunque también puede trabajar con secuencias de consulta (como BLAST) y no solo con perfiles (Eddy, 2020). Por otro lado, PSI-BLAST (Altschul *et al.* 1997), compara secuencias de consulta de proteínas contra una base de datos de proteínas (Altschul *et al.* 2014). Posterior a cada ronda de búsqueda, cualquier alineamiento estadísticamente significativo se combina en una alineación múltiple, de la cual una posición específica se extrae una matriz o perfil de puntaje específico (Altschul *et al.*

2014). Este perfil se compara con la base de datos de la siguiente ronda y así sucesivamente (Altschul *et al.* 2014).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Si bien Braconidae es una familia de himenópteros con una amplia diversidad y riqueza de especies, aún se desconocen muchos aspectos de su biología, tales como la relación parásito-huésped de muchas de sus especies, presencia y relación de polydnavirus-portador, así como la composición de su microbioma.

En un trabajo previo, Ramírez-Ahuja *et al.* (2019), determinaron con éxito la composición del microbioma de adultos de la especie de avispa parasitoide *Telenomus tridentatus* (Scelionidae) utilizando secuenciación de nueva generación. Asimismo, recientemente Burke *et al.* (2021) identificaron EVEs, tanto nuevos como conocidos, en genomas de algunas especies de Ichneumonoidea mediante búsquedas exhaustivas de similitud, combinadas con la identificación de genes centrales antiguos, que son genes de origen viral. Lo anterior pudo verificarse a partir de la hipótesis de que los EVEs están presentes en clados compuestos exclusivamente por especies endoparasitoides (por ejemplo, el complejo microgastroide de Braconidae o las subfamilias Campopleginae o Banchinae de Ichneumonidae), lo que sugiere que es posible la identificación de EVEs en el genoma de especies particulares, o subfamilias donde hasta la fecha aún no se reporta presencia de EVEs.

En el presente trabajo se usa información genómica (NGS: shotgun) a partir de ADN de organismos completos de diferentes especies de rogadinos obtenidas mediante técnicas de NGS, para realizar una búsqueda dirigida a EVEs, en particular, la presencia de genes centrales antiguos y la identificación de polydnavirus. Adicionalmente, dados los diferentes tipos de interacciones tanto beneficiosas como patógenas entre los insectos y microorganismos tales como bacterias, se busca caracterizar el microbioma de organismos completos de varias especies de avispas endoparasitoides de la subfamilia Rogadinae.

La metodología usada en esta investigación es un precedente de la utilidad de los datos genómicos de baja cobertura en estudios que tengan como objetivo la identificación de secuencias virales endógenas y exógenas.

OBJETIVOS

General:

- Caracterizar el microbioma y viroma, incluyendo elementos virales endógenos (EVEs) de especies de avispas endoparasitoides de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) empleando datos de secuenciación genómica.

Particulares:

- Identificar y caracterizar comunidades microbianas del genoma completo de especies de la subfamilia Rogadinae.
- Identificar secuencias de origen viral en datos de secuenciación masiva pertenecientes a especies de la subfamilia Rogadinae.
- Investigar si las secuencias virales encontradas corresponden a elementos virales endógenos (EVEs) mediante la comparación con genes centrales antiguos.

MÉTODOS

Muestreo de taxones

Se analizaron datos de NGS de ejemplares pertenecientes a 18 especies de la subfamilia Rogadinae. Para las especies cuya biología es conocida, se ha reportado que los miembros de esta subfamilia son koinobiontes endoparasitoides y atacan a distintas especies de lepidópteros.

Los ejemplares fueron colectados en diferentes países y originalmente utilizados para llevar a cabo estudios filogenéticos de la subfamilia Rogadinae usando elementos ultraconservados (UCEs) (Jasso-Martínez *et al.* 2021) y para la familia Braconidae en general usando mitogenomas (Jasso-Martínez *et al.* 2022a). Los datos crudos de las librerías de UCEs están públicos en la base de datos Sequence Read Archive (SRA) (BioProject PRJNA633180). Los datos de shotgun, que son a partir de los cuales se realizó este estudio, están disponibles en SRA para tres de las 18 muestras utilizadas (**Tabla 3**) como parte del BioProject PRJNA795146. Las librerías de shotgun para las muestras restantes fueron generadas específicamente para este trabajo. Los ejemplares se encuentran depositados actualmente en la Colección Nacional de Insectos de la UNAM.

Tabla 3. Especies de rogadinos utilizadas en este estudio, tribu a la que pertenecen, sus huéspedes reportados y sus sitios de colecta y número de acceso a SRA de datos de shotgun, si aplica. *Especies para las que su biología (estrategia de parasitoidismo, huésped) es desconocida.

Voucher no.	Tribu	Huéspedes reportados	Taxón	Localidad	No. acceso de SRA de datos de shotgun
3884	Aleiodini	Geometridae (Fortier, 2009).	<i>Aleiodes (Tetrasphaeropyx)</i> sp.	México: Sonora, 38 km SE Tericopa La Barranca. 28.577778, -109.665.532 m.	-
3898	Aleiodini	*	<i>Aleiodes cameronii</i>	México: Jalisco, Estación de Biología de Chamela. Chamela 68. 19.49923, -105.04388. 101 m.	-
4014	Aleiodini	*	<i>Cordylorhogas</i> sp.	Etiopía: Dorze Lodge, 25 km al norte de Arba Minch. 06° 10' N, 037° 34' E. 2400 m. 7-11.04.201	-
4016	Aleiodini	*	<i>Aleiodes</i> sp. (<i>Coronopus</i> group)	Tailandia: Loei Province, Parque Nacional. 16° 57' N, 101° 03 E. 17.03-10.04.2003	-
4170	Aleiodini	*	<i>Xenolobus</i> sp.	Malauí: montañas Viphya, Mzimba 20 km S. 33° 39'.8 E, 33° 39'.8 E. 1512 m. 25.7.2009	-
4206	Aleiodini	*	<i>Aleiodes (Arcaleiodes) arsenjevi</i>	Rusia: territorio de Primorskiy (=kray). Región de Khankayskiy, costa occidental del lago Khanka, pueblo de Novokachalinsk.	-
4163	Betylobraconini	*	<i>Mesocentrus</i> sp.	Fiyi: isla Viti Levu, Sigatoka Province, dunas de arena de Sigatoka. N. P. 177° 29 82" E, 18° 10' 4" S. 31 m. 28.6-3.7.2003	-
4176	Betylobraconini	*	<i>Mesocentrus</i> sp.	Australia: Queensland, Monte Glorious. 27° 19' 54" S, 152° 45' 29" E. 27.2.1998	SAMN24689 954
4183	Betylobraconini	*	<i>Betylobracon waterhousei</i>	Australia: Queensland B53, Massey Creck. 17.34 S, 145.34 E. 1000 m. 30.11.1995	SAMN24689 955
4201	Clinocentrini	*	<i>Tebennotoma (Eurhyssalus) spasskensis</i>	Rusia: territorio de Primorskiy, 20 km al noroeste del lago Khanka, prado, bosque claro. 30.08.1998	-
3883	Rogadini	Lymantriidae (Quicke y Shaw, 2005).	<i>Canalirogas</i> sp.	Brunéi: Temburong.	-
3895	Rogadini	Limacodidae, Papilionidae, Geometridae,	<i>Rogas nigrovenosus</i>	Rusia: territorio de Primorskiy (=kray). Región de Khankayskiy, costa occidental del lago Khanka, pueblo de Novokachalinsk.	-

		Tortricidae (van Achterberg, 1991).			
4018	Rogadini	*	<i>Cornutorhogas</i> sp.	Tailandia: Loei, NP, Subhnonghin. 17° 25.772 N, 101° 21.308 E. 860 m. 5-12.07.2006	-
4029	Rogadini	*	<i>Myocron</i> sp.	Madagascar: Tollara Province, BLF. 2001.	-
4171	Rogadini	Sphingidae, Lymantriidae (Sulca, 2011).	<i>Cystomastax</i> sp.	Costa Rica: Province 50 m. 9.1989.	-
4205	Rogadini	Sphingidae (Quicke <i>et al.</i> 2012; Shaw, 2002a; Maetô y Arakaki, 2005).	<i>Macrostomion</i> <i>sumatranum</i>	Japón: isla Iriomote (en el grupo de las islas Ryukyu, archipiélago de las islas Yaeyama), 16- 18.10.1999.	-
3896	Yeliconini	Cyclorrhapha (Quicke y Kruft, 1995).	<i>Yelicones</i> sp.	México: Jalisco, Chamela Chamela 68. 19.49923, - 105.04388. 101 m.	-
4203	Yeliconini	*	<i>Facitorius</i> <i>granulosus</i>	Vietnam: distrito de Mai Chau de la provincia de Hoa Binh. Hang Kia. 104° 53' E, 104° 53' E. 1300 m. 25-26.04.2002	SAMN24689 958

Construcción de bibliotecas genómicas y secuenciación

El ADN genómico de cada individuo se extrajo mediante una técnica no destructiva (Ceccarelli *et al.* 2012) con el Kit de columna EZ-10 Spin Kit minipreps (BIOBasic, Toronto, Ontario, Canadá) siguiendo el protocolo del fabricante. La cuantificación del ADN se realizó utilizando Qubit 2.0 (Invitrogen, Life Technologies, CA, EE. UU.). La fragmentación del ADN se realizó con el sonicador Qsonica Q800R (Qsonica 457 LLC, Newton, CT, EE. UU.). El número de ciclos de fragmentación empleados (1 ciclo = movimiento por 15 s, estático durante 90 s) dependió del tipo de conservación y antigüedad de las muestras. Se empleó un ciclo para muestras montadas y antiguas (40 años de antigüedad, o más) y dos o tres ciclos para muestras más recientes y preservadas en etanol.

Para la preparación de librerías genómicas se usaron de 2 a 100 ng de ADN iniciales un volumen total de 100 µL de agua ultrapura (**Tabla 4**) siguiendo el protocolo descrito por Branstetter *et al.* (2017) utilizando el kit Kapa Hyper Prep (Kapa Biosystems Inc.,

Wilmington, MA, EE. UU.) y los adaptadores TruSeq: ITru5 y ITru7 (Glenn *et al.* 2016). La secuenciación de las bibliotecas genómicas se realizó con el instrumento Illumina HiSeq X Ten en el Departamento de Ciencias de la Salud Ambiental de la Universidad de Georgia, Athens, GA, EE. UU.

Tabla 4. Cantidad de ADN con la que se construyeron las bibliotecas genómicas y la combinación de primers usados por cada muestra de cada organismo (ITru 5 y 7).

Voucher no.	Taxón	ADN inicial (ng/uL)	ITru5	ITru7
3883	<i>Canalirogas</i> sp.	50	2C	11-3
3884	<i>Aleiodes</i> (<i>Tetrasphaeropyx</i>) sp.	50	2D	11-4
3895	<i>Rogas nigrovenosus</i>	50	2F	11-6
3896	<i>Yelicones</i> sp.	50	3B	11-10
3898	<i>Aleiodes cameronii</i>	50	3D	11-12
4014	<i>Cordylorhogas</i> sp.	100	2C	12-3
4016	<i>Aleiodes</i> sp. (<i>Coronopus</i> group)	50	2E	12-5
4018	<i>Cornutorhogas</i> sp.	100	2G	12-7
4029	<i>Myocron</i> sp.	100	4B	13-6
4163	<i>Mesocentrus</i> sp.	50	2B	12-4
4170	<i>Xebolobus</i> sp.	100	4A	13-5
4171	<i>Cystomastax</i> sp.	100	4B	10-7
4176	<i>Mesocentrus</i> sp.	100	2E	11-9
4183	<i>Betylobracon</i> <i>waterhousei</i>	60	4G	10-8
4201	<i>Tebennotoma</i> (<i>Eurhyssalus</i>) <i>spasskensis</i>	80	2B	11-7
4203	<i>Facitorius granulatus</i>	26	2B	11-10
4205	<i>Macrostomion</i> <i>sumatranum</i>	25	3A	11-12
4206	<i>Aleiodes</i> (<i>Arcaleiodes</i>) <i>arsenjevi</i>	30	3C	11-11

Control de calidad y filtrado de secuencias

Se realizó un control de calidad de todas las secuencias crudas con FASTQC (Andrews, 2010) en la plataforma en línea Galaxy (<https://usegalaxy.org/>). Posteriormente se hizo un

filtrado de datos con el programa Trimmomatic v.0.38.0 (Bolger *et al.* 2014) para eliminar las secuencias de adaptadores y bases de calidad subóptima. Por último, se realizó un segundo control de calidad de los datos post-filtrado nuevamente en el programa FASTQC.

Ensamble genómico

Una vez filtrados los conjuntos de datos, se llevaron a cabo ensambles *de novo* en cada uno de los datos en rnaSPAdes (Bankevich *et al.* 2012) utilizando el valor de k-mer 55, a excepción de las muestras pertenecientes a los individuos *Mesocentrus* sp. (CNIN 4163) y *Betylobracon waterhousei* (CNIN 4183), cuyos ensambles fueron realizados con Trinity v.2.9.1 (Grabherr *et al.* 2011), de igual forma usando el valor de k-mer de 55. Ambos programas de ensamble se utilizaron desde la plataforma en línea Galaxy. A partir de los datos ensamblados, se eliminaron manualmente aquellas lecturas (*contigs*) menores a 200 pares de bases para optimizar la búsqueda de coincidencias en el algoritmo BLAST.

BLAST

A partir de los datos ensamblados excluyendo *contigs* menores a 200 pares de bases, se hizo una búsqueda de similitud de las secuencias con la base de datos de NCBI (National Center for Biotechnology Information) mediante el algoritmo discontinuous MEGABLAST (Zhang *et al.* 2000). Este algoritmo fue diseñado específicamente para la comparación entre secuencias divergentes, especialmente secuencias de diferentes organismos con alineamientos que tienen un bajo nivel de identidad. Los parámetros que ayudan a que se realice una mejor comparación de las secuencias entre especies distintas, es optimizando las alineaciones hasta un 85% de identidad (States *et al.* 1991). Estos análisis se llevaron a cabo en la supercomputadora de la UNAM: Miztli, con el software NCBI-BLAST v.2.10.

Asignación taxonómica

La asignación taxonómica de las 16 especies analizadas en este estudio fue realizada mediante los paquetes taxize v.0.9.99 (Chamberlain y Szöcs, 2013) y seqinr (Charif y Lobry, 2007) en el programa RStudio v.2021.09.1 empleando el script de Holmes y Rabosky (2018) modificado por Acosta (2022). Para cada muestra se usó el valor de porcentaje mínimo significativo (*threshold*) de 90% (Holmes y Rabosky, 2018). El nivel de phylum y familia fueron usados como datos de mayor interés.

A partir de las asignaciones taxonómicas utilizando *threshold* de 90%, se filtraron todas aquellas asignaciones que no correspondieran a bacterias o virus, y las restantes se

utilizaron para los análisis posteriores.

Marcos de lectura abierta (ORFs)

Considerando que las secuencias de proteínas (*i.e.* aminoácidos) son, en general, más conservadas y cuentan con una tasa de mutaciones más lenta, se tradujeron los ensambles de todos los individuos y fueron convertidos a marcos de lectura abiertos (*ORFs* por sus siglas en inglés) entre las regiones de paro de cada uno de los conjuntos de datos usando el programa en línea EMBOSS getorf v.5.0.0.1 (Rice *et al.* 2000).

Confirmación y afinidad filogenética de secuencias virales

Para la búsqueda de genes centrales antiguos se utilizaron dos aproximaciones complementarias. La primera fue usando la paquetería hmmsearch v.3.3.2 (Eddy, 2011), en donde se usaron las matrices de genes virales compiladas por Burke *et al.* (2021) para seis genes centrales antiguos: ADN polimerasa, helicasa, lef-5, lef-8, lef-9 y p33, recuperados a partir de secuencias de proteínas pertenecientes a 24 especies representativas de virus grandes de doble cadena de DNA que infectan artrópodos (**Tabla 5**) usando modelos ocultos de Markov.

Tabla 5. Especies representativas de virus grandes de doble cadena de DNA que infectan artrópodos.

Abreviatura	Organismo	Familia de virus
ToNV	<i>Tipula oleracea</i> nudivirus	Betanudivirus
OrNV	<i>Oryctes rhinoceros</i> nudivirus	Aphanudivirus
AMEV	<i>Amsacta moorei</i> entomopoxvirus	Poxvirus
GbNV	<i>Gryllus bimaculatus</i> nudivirus	Aphanudivirus
MSEV	<i>Melanoplus sanguinipes</i> entomopoxvirus	Poxvirus
IIV-6	Invertebrate iridescent virus 6	Iridovirus
HzNV-2	<i>Helicoverpa zea</i> nudivirus 2	Betanudivirus
PmNV	<i>Penaeus monodon</i> nudivirus	Betanudivirus
AcMNPV	<i>Autographa californica</i> multiple nucleopolyhedrovirus	Baculovirus
CpGV	<i>Cydia pomonella</i> granulovirus	Baculovirus

NeseMNPV	<i>Neodiprion sertifer</i> nucleopolyhedrovirus	Baculovirus
CuniNPV	<i>Culex nigripalpus</i> nucleopolyhedrosis virus	Baculovirus
LbEFV	Virus filamentoso endógeno <i>Leptopilina boulandi</i>	Similar a virus filamentoso de <i>Leptopilina boulandi</i>
MdSGHV	<i>Musca domestica</i> salivary gland hypertrophy virus	Hytrosavirus
GpSGHV	<i>Glossina pallidipes</i> salivary gland hypertrophy virus	Hytrosavirus
HvAV-3e	<i>Heliothis virescens</i> ascovirus	Ascovirus
DiNV	<i>Drosophila innubila</i> nudivirus	Alphanudivirus

La segunda aproximación fue usando el programa PSI-BLAST (Altschul *et al.* 1997) y la base de datos de Burke *et al.* 2021, a partir de la cual se obtuvieron secuencias de las 24 especies virales antes mencionadas para cada gen central, usando los parámetros: “-evaluate 0.005 - outfmt "6 std qlen slen qcovs ppos” (Burke *et al.* 2021). En el archivo de salida se determinó el número de *contigs* para los cuales se encontró la coincidencia y el número de acceso en GenBank del virus proveniente de la base de datos anteriormente mencionada, además de los valores estadísticos del alineamiento en cuestión.

Para verificar los resultados de HMMER y PSI BLAST, se realizó una búsqueda utilizando los parámetros por defecto con otra variante de algoritmo de BLAST (Blastp) empleando su versión 2.13.0 (Bhagwat y Aravind, 2007), la cual compara secuencias de proteínas usando la base de datos “non-redundant (nr)”. A partir de los resultados de esta búsqueda se conservaron las primeras cinco coincidencias.

Búsqueda de secuencias virales

Aquellos ORFs que tuvieran dentro de las primeras cinco coincidencias a algún virus, se separaron y se utilizaron para construir una matriz de datos junto con secuencias de virus filamentosos endógenos tomadas de las bases de datos de Burke *et al.* (2021). Después se hicieron alineamientos individuales de cada gen central identificado en *Yelicones* sp. (ADN polimerasa, *lef-8* y *lef-9*) usando el algoritmo FFT-NS-X2 de MAFFT v.7.450 (Kato *et al.* 2002). Posteriormente, los alineamientos de las tres matrices se verificaron y concatenaron en

Geneious v.10.2.3 (<https://www.geneious.com>). Los análisis filogenéticos se realizaron por el método de Máxima Verosimilitud en el programa IQTree v.1.3.2 (Nguyen *et al.* 2015) con 1,000 réplicas de bootstrap.

RESULTADOS

Secuenciación

La secuenciación con la plataforma Illumina HiSeq X Ten, generó entre 204,687 y 7,253,373 *paired-end reads* entre todos los individuos. Y después del filtrado de estos conjuntos de datos con Trimmomatic resultaron entre 202,824 y 6,185,480 *paired-end reads* por muestra (**Tabla 6**).

Tabla 6. Resumen del número de *paired-end* generados por muestra antes y después del filtrado.

Voucher no.	Taxón	# READS R1	# READS R1 (post-trimm)	# READS R2	# READS R2 (post-trimm)
3883	<i>Canalirogas</i> sp.	292,089	287,477	292,089	287,477
3884	<i>Aleiodes</i> (<i>Tetrasphaeropyx</i>) sp.	584,006	577,683	584,006	577,683
3895	<i>Rogas nigrovenosus</i>	301,301	299,554	301,301	299,554
3896	<i>Yelicones</i> sp.	331,150	329,863	331,150	329,863
3898	<i>Aleiodes cameronii</i>	528,100	523,920	528,100	523,920
4014	<i>Cordylorhogas</i> sp.	858,815	854,109	858,815	854,109
4016	<i>Aleiodes</i> sp. (<i>Coronopus</i> group)	274,115	271,181	274,115	271,181
4018	<i>Cornutorhogas</i> sp.	853,936	844,895	853,936	844,895
4029	<i>Myocron</i> sp.	1,647,387	1,613,741	1,647,387	1,613,741
4163	<i>Mesocentrus</i> sp.	2,506,669	2,493,301	2,506,669	2,493,301
4170	<i>Xebolobus</i> sp.	260,603	258,398	260,603	258,398
4171	<i>Cystomastax</i> sp.	204,687	202,824	204,687	202,824
4176	<i>Mesocentrus</i> sp.	6,185,480	2,440,227	6,185,480	2,449,818
4183	<i>Betylobracon waterhousei</i>	7,253,373	7,223,395	7,253,373	7,223,395
4201	<i>Tebennotoma</i> (<i>Eurhyssalus</i>)	714,573	708,472	714,573	708,472

	<i>spasskensis</i>				
4203	<i>Facitorius granulosis</i>	506,385	499,732	506,385	499,732
4205	<i>Macrostromion sumatranum</i>	699,686	693,591	699,686	693,591
4206	<i>Aleiodes (Arcaleiodes) arsenjevi</i>	273,628	271,941	273,628	271,941

Ensamble genómico

Con el ensamblador RNASpades y un kmer de 55, se obtuvo un total de 1,414,774 *contigs* entre todos los individuos. *Betylobracon waterhousei* (65,715 *contigs*) y *Xebolobus* sp. (21 *contigs*) fueron los individuos que más y menos *contigs* tuvieron, respectivamente. El filtrado para eliminar los *contigs* que tuvieran menos de 200 pares de bases (pb) tuvo un máximo de 65,715 *contigs* y un mínimo de 21 *contigs*.

Asignación taxonómica del microbioma

En la **Figura 16** se muestra el resultado de la asignación taxonómica. Las bacterias fueron el grupo más abundante en la microbiota de las especies analizadas en este estudio. Las familias bacterianas Bacillaceae, Clostridiaceae, Enterobacteriaceae y Streptomyetaceae fueron las que se encontraron presentes en todos los rogadinos examinados. En cuanto a los virus, la familia *Rountreeviridae* fue la que se encontró con más frecuencia, ya que estaba presente en 13 de 16 especies (**ANEXO 1**). De igual manera, las familias virales *Myoviridae* y *Herpesviridae* estuvieron presentes en la mayoría de los individuos examinados.

Finalmente, en las especies de rogadinos *Canalirogas* sp., *Rogas nigrovenosus*, *Aleiodes* sp. [*Coronopus* group], *Myocron* sp. y *Tebennotoma* [*Eurhyssalus*] *spasskensis* se encontraron secuencias similares a Polydnavirus ya publicadas en GenBank.

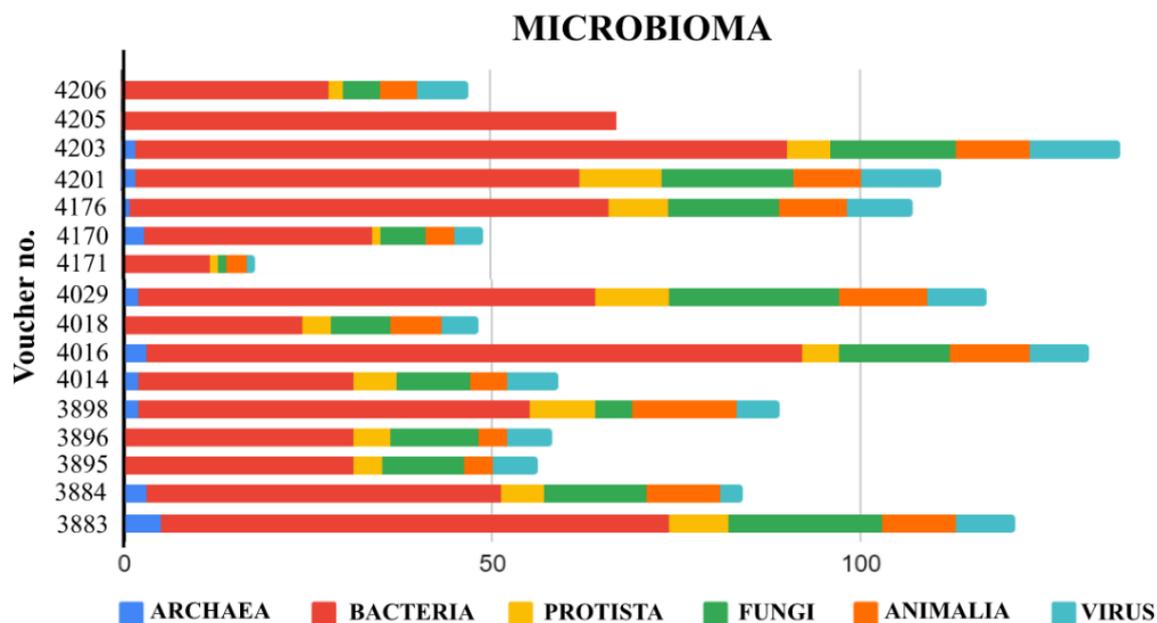


Figura 16. Gráfica de los grupos pertenecientes al microbioma de los ejemplares de estudio.

Afinidad filogenética de secuencias virales identificadas en especies de Rogadinae

Los ORFs fueron identificados a partir de los *contigs* pertenecientes a los ensamblados de un total de 18 especies de Rogadinae.

Con respecto a los resultados de HMMER y PSI-BLAST, para todos los ejemplares se encontraron coincidencias con al menos uno de los seis genes centrales antiguos reportados en Ichneumonoidea (**ANEXO 2**). *Betylobrakon waterhousei* fue la especie para la que se encontraron más coincidencias; en HMMER obtuvo 65 coincidencias y con PSI-BLAST 29, mientras que para *Xebolobus* sp. solo se encontró una coincidencia exclusivamente con HMMER. El gen central antiguo que se identificó con mayor frecuencia utilizando ambas aproximaciones fue ADN polimerasa, mientras que para el que se identificaron menos coincidencias fue la helicasa.

En cuanto a los resultados obtenidos con el algoritmo BLASTp (**Tabla 7**), para 17 de las 18 especies de rogadinos analizadas se recuperaron coincidencias con secuencias de virus reportadas en subfamilias de Braconidae para las que se han identificado EVEs, tales como Opiinae (*Fopius arisanus* y *Diachasma alloeum*) y las subfamilias del complejo microgastroide: Microgastrinae (*Microplitis demolitor* y *Cotesia congregata*) y Cheloninae (*Chelonus insularis*). Por otro lado, se encontraron coincidencias con una secuencia viral encontrada en una especie de la subfamilia de ichneumónidos Campopleginae (*Venturia canescens*). En este análisis no se encontraron coincidencias en *Xebolobus* sp. a pesar de haber tenido coincidencias con el gen *p33* en HMMER. En contraposición, *Cornutorhogas*

sp. fue la especie que más coincidencias tuvo (29 en total), siendo los genes *ADN polimerasa* y *p33* donde se obtuvieron similitudes con las secuencias virales de los seis genes centrales antiguos pertenecientes a las seis especies de Ichneumonoidea mencionadas anteriormente.

Tabla 7. Resumen de las coincidencias con especies de subfamilias pertenecientes a la familia Braconidae e Ichneumonidae. *Chelonus insularis* □; *Cotesia congregata* ●; *Diachasma alloeum* □; *Fopius arisanus* Δ; *Microplitis demolitor* ✚; *Venturia canescens* 0.

Voucher no	Taxón	Genes centrales antiguos					
		ADNpol	helicasa	lef-5	lef-8	lef-9	p33
3883	<i>Canalirogas</i> sp.	●, Δ, □	□ Δ	-	-	□ Δ, 0	●, □
3884	<i>Aleiodes</i> (<i>Tetrasphaeropyx</i>) sp.	●, 0	-	□ Δ, 0	□, □ Δ, 0	□, □, Δ, ✚, 0	□
3895	<i>Rogas nigrovenosus</i>	□, □, Δ, ✚	-	□, □ Δ	□	-	-
3896	<i>Yelicones</i> sp.	-	-	-	□ Δ	-	-
3898	<i>Aleiodes cameronii</i>	□, ●, □ Δ, 0	-	-	□, □ Δ	-	-
4014	<i>Cordylorhogas</i> sp.	□, □ Δ, 0	-	□, Δ, ✚	-	-	-
4016	<i>Aleiodes</i> sp. (<i>Coronopus</i> group)	0	-	□ Δ, 0	-	□ Δ, 0	-
4018	<i>Cornutorhogas</i> sp.	□, ●, □, Δ, ✚, 0	●, Δ	●, □, Δ, ✚, 0	●, □, Δ, ✚, 0	□, □, Δ, ✚, 0	□, ●, □, Δ, ✚, 0
4029	<i>Myocron</i> sp.	□, ●, □, Δ, ✚, 0	-	□, □, Δ, ✚, 0	□, ●, □, Δ, ✚, 0	□, ●, □, Δ, ✚, 0	●
4163	<i>Mesocentrus</i> sp.	●, 0	-	□, □ Δ	□ Δ	-	-
4170	<i>Xebolobus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
4171	<i>Cystomastax</i> sp.	□, ●, □, Δ, ✚, 0	-	-	-	□ Δ, 0	□, ●, □, Δ, ✚
4176	<i>Mesocentrus</i> sp.	□, ●, □ Δ	-	-	□ Δ	□ Δ	-
4183	<i>Betylobracon</i> <i>waterhousei</i>	□, ●, □,	-	□, □, Δ,	□, □ Δ, 0	□, ●, □,	□, □, Δ,

		△, ⊕, 0		⊕, 0		△, ⊕, 0	⊕
4201	<i>Tebennotoma (Eurhyssalus) spasskensis</i>	□, ⊙, □, △, ⊕, 0	-	□, △	-	□, □, △	-
4203	<i>Facitorius granulosis</i>	□, □, △, ⊕	-	-	-	□, □, △, 0	-
4205	<i>Macrostomion sumatranum</i>	□, □, △, ⊕, 0	-	-	□, 0	□	-
4206	<i>Aleiodes (Arcaleiodes) arsenjevi</i>	□, ⊙, □, △, ⊕, 0	-	-	-	-	-

En el análisis con el algoritmo de Blastp para la especie de rogado *Yelicones* sp. se recuperaron coincidencias con virus filamentosos endógenos asociados a una variedad de insectos, tales como *Drosophila* sp., *Dolichomitus* sp., *Leptopilina bouhardi* y *Musca domestica* (Figura 17).

A) NODE_12_length_6891_cov_15.4498_138

Name	Description	E Value
CAH2100778	unnamed protein product [Euphydryas editha]	4.29e-09
CAH2100777	unnamed protein product [Euphydryas editha]	3.54e-16
CAH2100770	unnamed protein product [Euphydryas editha]	2.88e-13
QKN22518	putative DNA PolB, partial [Drosophila-associated filamentous virus]	5.66e-57
YP_009345662	putative DNA pol [Leptopilina bouhardi filamentous virus]	7.92e-102

B) NODE_1_length_16930_cov_18.7413_711

Name	Description	E Value
CAH2100764	unnamed protein product [Euphydryas editha]	5.16e-16
CAH2100771	unnamed protein product [Euphydryas editha]	4.56e-16
MBT0716641	Lef-8 protein [Dolichomitus sp. PSUC_FEM 10030005]	2.96e-40
QKN22494	putative protein 40 [Drosophila-associated filamentous virus]	1.27e-32
YP_009345700	hypothetical protein LbFV_ORF96 [Leptopilina bouhardi filamentous virus]	9.23e-104

C) NODE_1_length_16930_cov_18.7413_377

Name	Description	E Value
CAH0717177	unnamed protein product, partial [Brenthis ino]	1.67e-46
QKN22481	putative protein 27 [Drosophila-associated filamentous virus]	2.73e-59
MBT0716612	Lef-9 protein [Dolichomitus sp. PSUC_FEM 10030005]	1.28e-18
MBT0716657	Lef-9 protein 2 [Dolichomitus sp. PSUC_FEM 10030005]	5.60e-06
YP_001883402	hypothetical protein MdSGHV074 [Musca domestica salivary gland hy]	3.64e-13

Figura 17. Coincidencias de Blastp (nr) de los genes *ADN polimerasa* (A), *lef-8* (B) y *lef-9* (C) con secuencias virales (resaltados en amarillo). A) Similitudes con un virus filamentosos asociados al género *Drosophila* al igual que similitudes con secuencias del virus filamentosos encontrados en el figítido *Leptopilina bouhardi*. B) Coincidencias con el gen *lef-8* encontrado en una especie del género *Dolichomitus*, con un virus filamentosos

asociado a una especie del género *Drosophila* y con un virus filamentososo encontrado en *Leptopilina bouhardi*. C) Similitudes con un virus filamentososo asociado a *Drosophila*, al gen *lef-9* encontrado en una especie de *Dolichomitus* y a un virus de las glándulas salivales de *Musca domestica*.

En los árboles de máxima verosimilitud de los genes *ADN polimerasa* (**Figura 18**), *lef-8* (**Figura 19**) y *lef-9* (**Figura 20**) se muestra como el ORF perteneciente a *Yelicones* sp. (CNIN 3896) está estrechamente relacionado con las muestras virales pertenecientes al grupo viral LbFV (bootstrap=95.5/94 para *ADN polimerasa*, 91/91 para *lef-8* y 96.8/72 para *lef-9*). En el árbol perteneciente a *ADN polimerasa* (**Figura 18**) el grupo de los LbFV es grupo hermano de la secuencia viral de AmFV (bootstrap=98.1/96), en el árbol de *lef-8* (**Figura 19**) y de *lef-9* (**Figura 20**) es grupo hermano de los Hytrosavirus (bootstrap=100/100 para ambos).

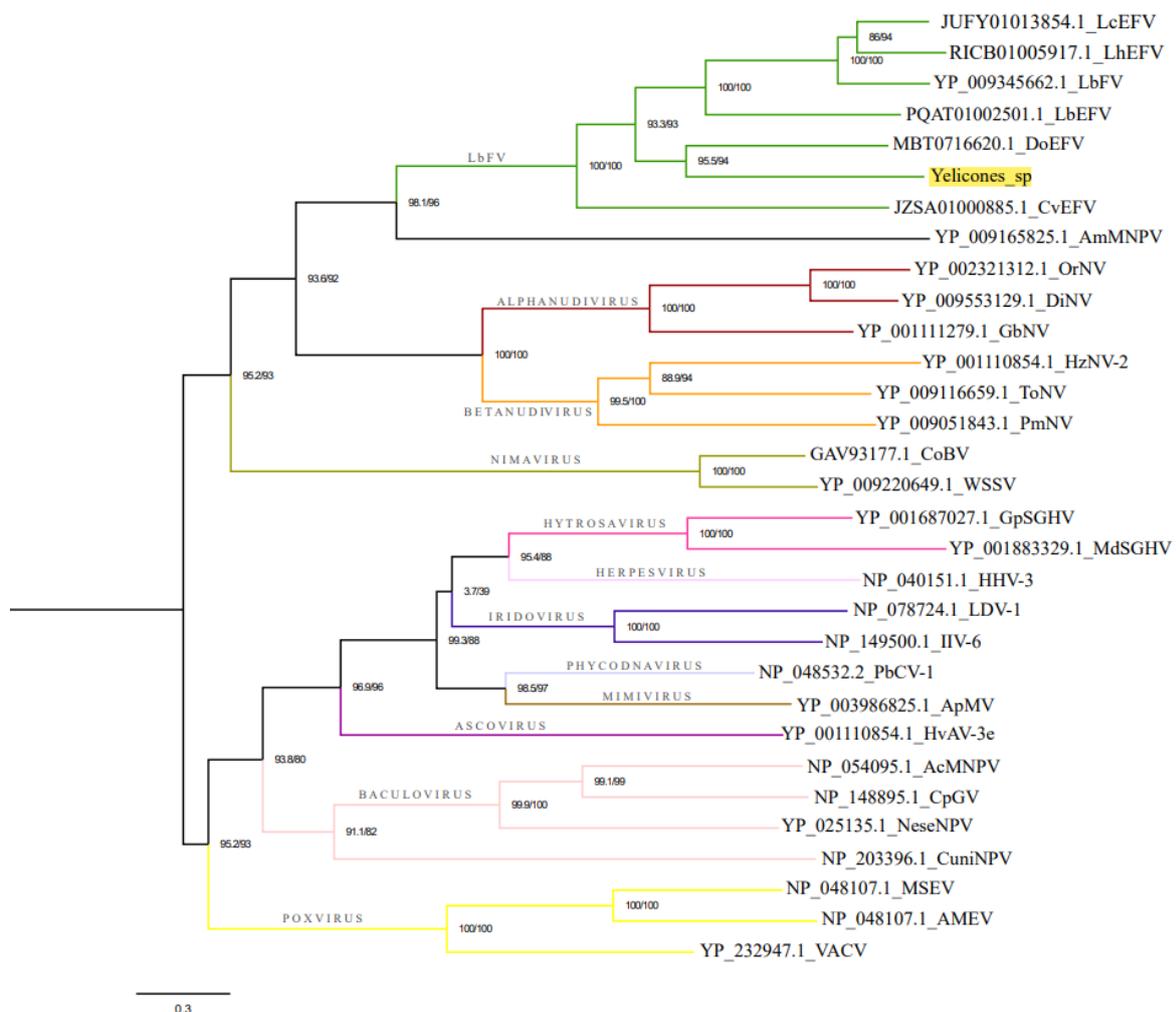


Figura 18. Árbol de máxima verosimilitud del gen *ADN polimerasa* enraizado en la parte media de la topología. Las secuencias fueron obtenidas de: LDV-1, IIV-6, HvAv-3e, PbCV-1, ApMV, GpSGHV, MdSGHV, HHV-3, MSEV, AMEV, VACV, AcMNPV, CpGV, NeseMNPV, CuniNPV, CoBV, WSSV, *Leptopilina clavipes* endogenous filamentous virus (LcEFV), *Leptopilina heterotoma* endogenous filamentous virus (LhEFV), *Leptopilina bouhardi* endogenous filamentous virus (LbEFV), *Leptopilina bouhardi* filamentous virus (LbFV), *Dolichomitus* sp. endogenous filamentous virus (DoEFV), *Cotesia vestalis* endogenous filamentous virus (CvEFV), *Apis mellifera* filamentous virus (AmFV), GbNV, OrNV, DiNV, HzNV-2, ToNV y PmNV. Los valores junto a los nodos indican valores de bootstrap.

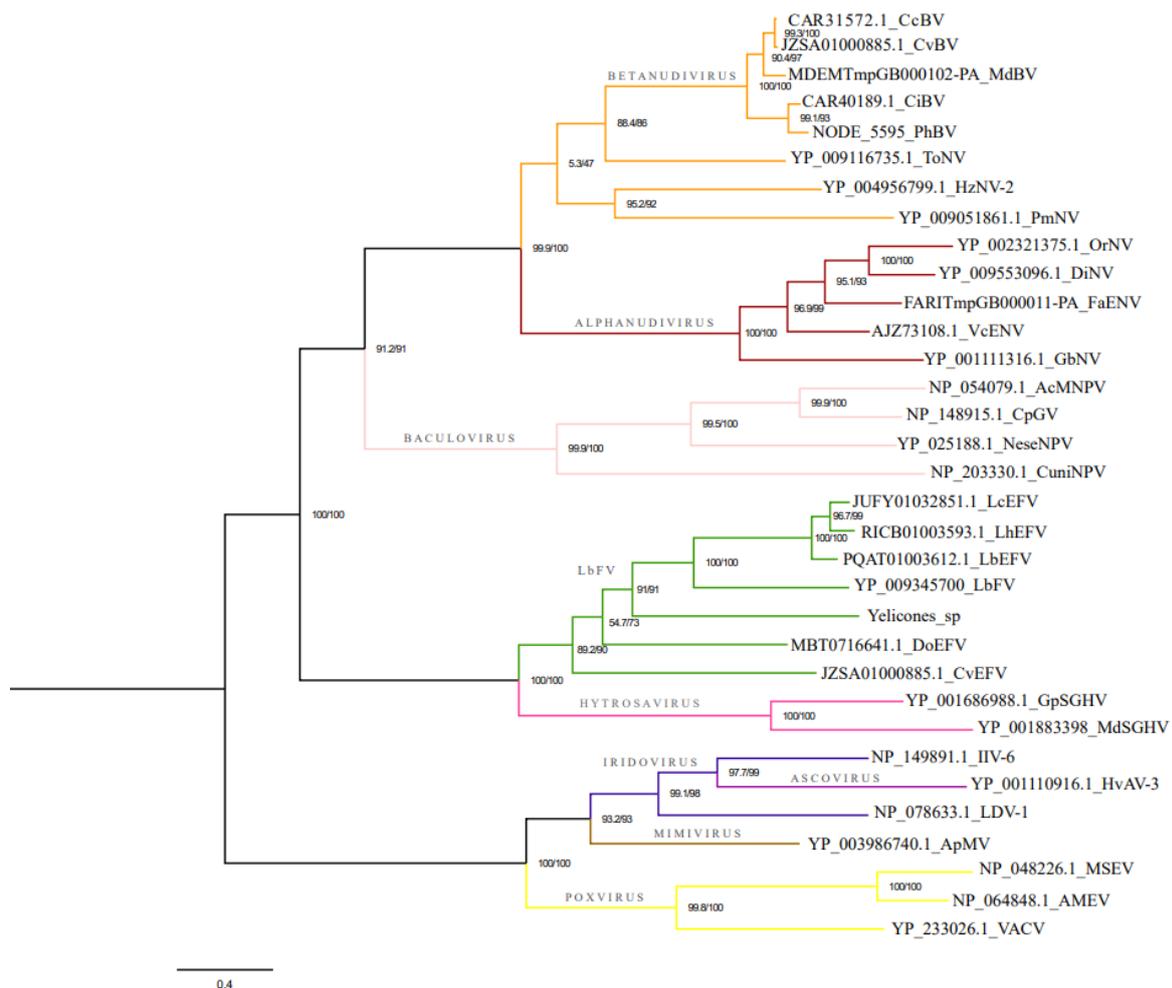


Figura 19. Árbol de máxima verosimilitud del gen *lef-8* enraizado en la parte media de la topología. Las secuencias fueron obtenidas de: LcEFV, LhEFV, LbEFV, *Cotesia vestalis* bracovirus (CvBV), *Dolichomitus* sp. endogenous filamentous virus (DoEFV), *Phanerotoma* bracovirus (PhBV), GpSGHV, MdSGHV, AcMNPV, CpGV, NeseMNPV, CuniNPV, MSEV, AMEV, VACV, IIV-6, HzNV-2, HvAV-3e, LDV-1, ApMV, *Cotesia congregata* bracovirus (CcBV), *Microplitis demolitor* bracovirus (MdBV), *Chelonus insularis* bracovirus (CiBV), ToNV, PmNV, GbNV, FaENV, OrNV, DiNV y *Venturia canescens* VLP (VcVLP). Los valores junto a los nodos indican valores de bootstrap.

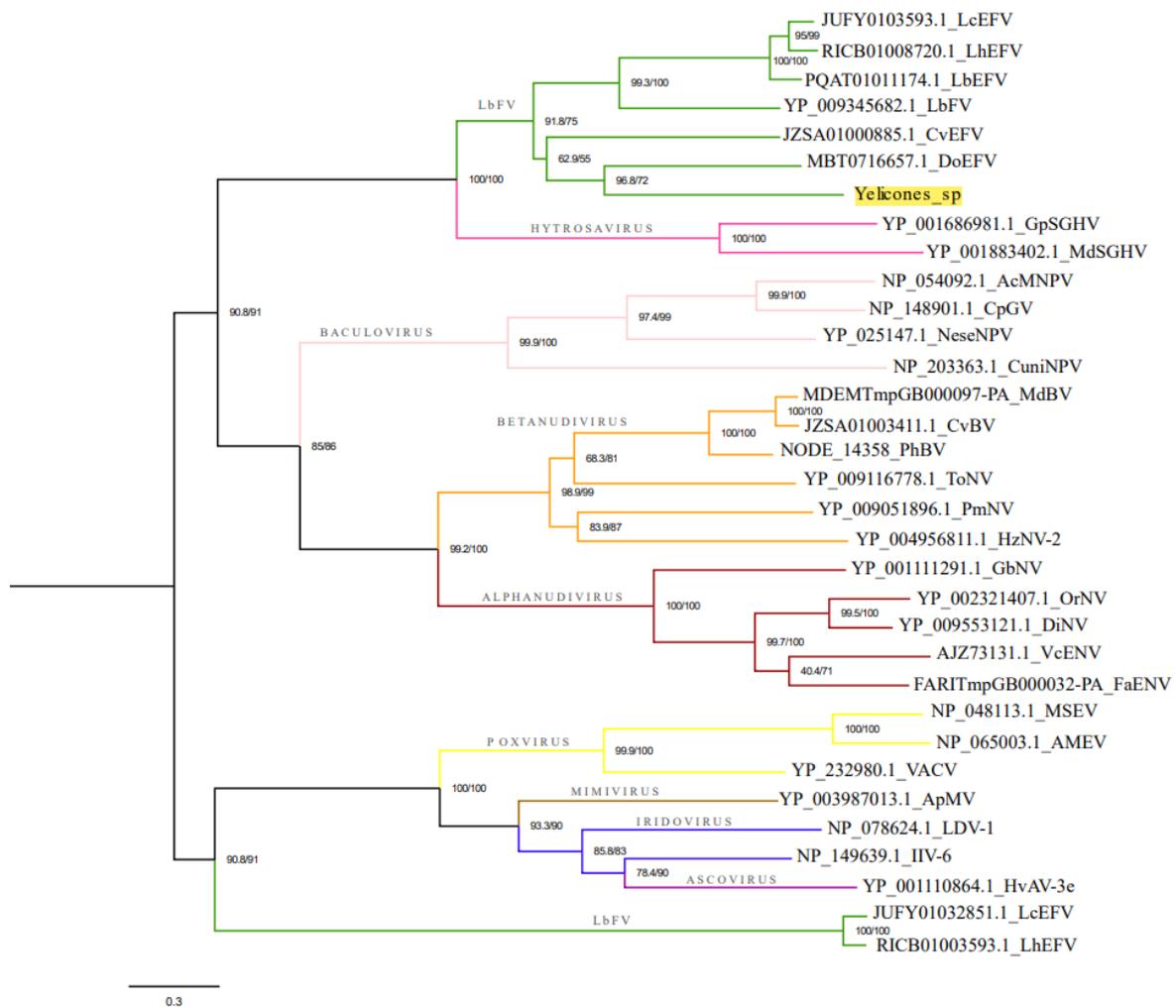


Figura 20. Árbol de máxima verosimilitud del gen *lef-9* enraizado en la parte media de la topología. Las secuencias fueron obtenidas de: LcEFV, LhEFV, LbEFV, DoEFV, *Cotesia vestalis* virus, GpSGHV, MdSGHV, CpGV, AcMNPV, NeseMNPV, CuniNPV, MSEV, AMEV, VACV, IIV-6, HzNV-2, LDV-1, HzAV-3e, ApMV, MdBV, CoBV, PhBV, ToNV, PmNV, GbNV, OrNV, DiNV, VcVLP y FaENV. Los valores junto a los nodos indican valores de bootstrap.

En el análisis concatenado de los tres genes centrales antiguos (**Figura 21**), las secuencias virales identificadas en *Yelicones sp.* se recuperaron como estrechamente relacionadas con el grupo de los virus filamentosos parecidos a *Leptopilina boulandi* (LbFV) (bootstrap=82). A su vez, el grupo de los LbFV es el grupo hermano de la secuencia viral AmFV (bootstrap=82) y de la familia *Hytrosaviridae* (bootstrap=52).

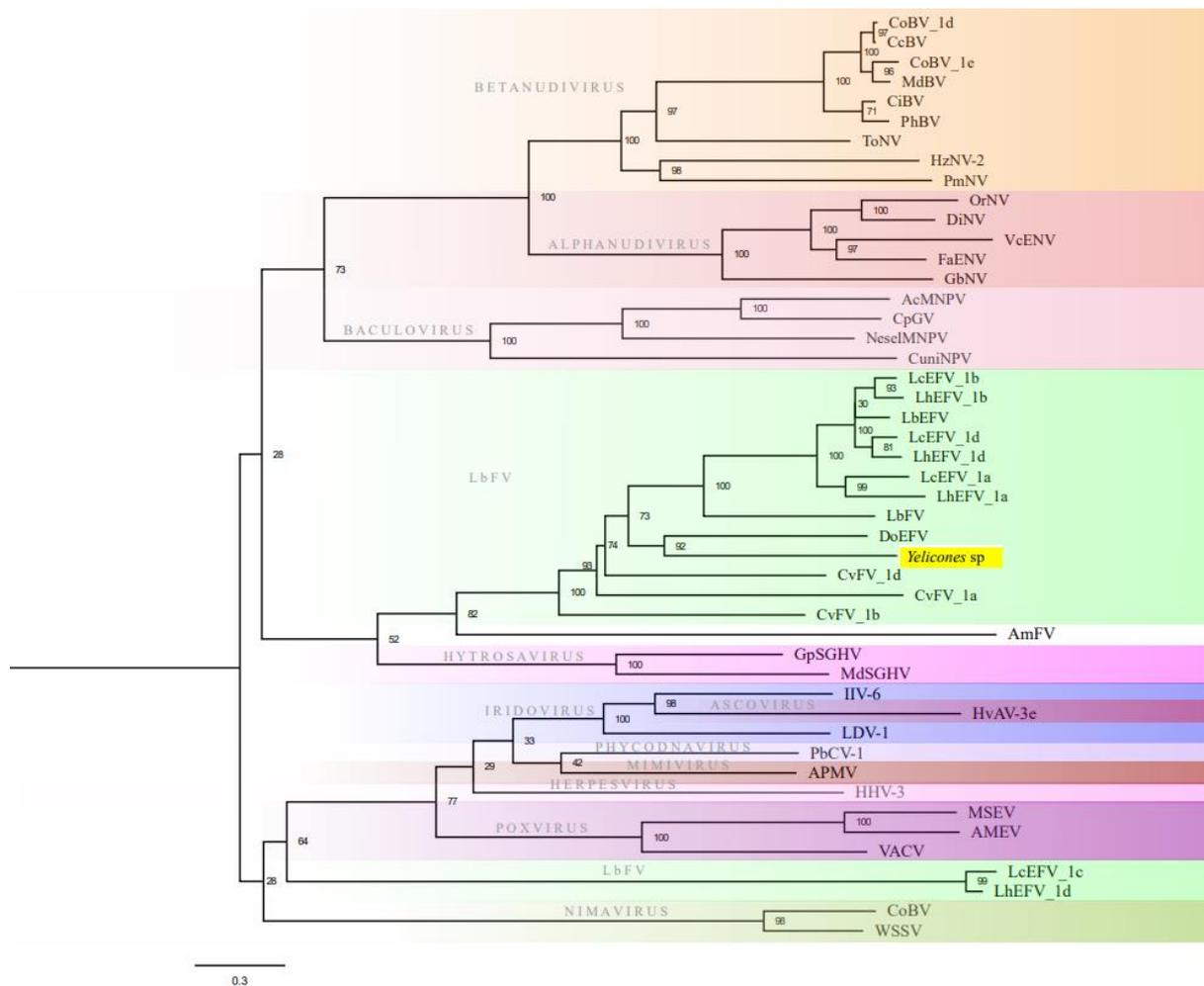


Figura 21. Filograma recuperado con el método de Máxima Verosimilitud a partir de la matriz concatenada que contiene la secuencia de *Yelicones* sp. y algunas secuencias de virus de ADN de doble cadena en los genes *ADN polimerasa*, *lef-8* y *lef-9*. El árbol está enraizado en la parte media de la topología. Los valores junto a los nodos indican valores de bootstrap y los colores representan las familias virales a las que pertenecen las secuencias virales.

DISCUSIÓN

Composición del microbioma en Hymenoptera

En los microbiomas que se han caracterizado para especies de Hymenoptera, las bacterias son el grupo mejor representado (Dillon y Dillon, 2004; Hongoh, 2010; Colman *et al.* 2012; Engel y Moran, 2013; Brune, 2018), exhibiendo muy variados tipos de asociaciones benéficas en los huéspedes. Aunque algunos insectos albergan grandes comunidades intestinales de bacterias especializadas, otras son colonizadas de manera oportunista y escasamente por bacterias comunes en otros insectos (Engel y Moran, 2013). El tracto digestivo de los insectos varía ampliamente en morfología y propiedades fisicoquímicas; por ejemplo, los insectos con interacciones sociales, como las abejas, las hormigas o las avispas,

brindan oportunidades para la transferencia horizontal de bacterias intestinales, y algunas de las comunidades intestinales más distintivas y consistentes, con funciones beneficiosas especializadas en nutrición y protección, se han encontrado en estos insectos (Engel y Moran, 2013).

Los resultados de este trabajo muestran una composición similar del microbioma, ya que se encontraron distintos grupos bacterianos en todas las especies analizadas. Las familias bacterianas Bacillaceae, Clostridiaceae, Enterobacteriaceae y Streptomycetaceae fueron las únicas presentes en todos los ejemplares de Rogadinae examinados, mientras que la familia de virus *Rountreeviridae* fue encontrada en 13 de los 16 ejemplares.

Siguiendo la idea de las relaciones mutualistas en el microbioma, es como se podría explicar la presencia y abundancia de estas familias en todos los organismos analizados en este estudio. En el caso de las bacterias, hay trabajos que exponen el papel fundamental que desempeñan en el microbioma de los insectos. Por ejemplo, en los miembros de Bacillaceae se encuentran aquellos que tienen la capacidad de descomponer celulosa, hemicelulosa y pectina (Soriano *et al.* 2005; Okeke y Lu, 2011; Outtara *et al.* 2011; Soares *et al.* 2012), lo que sugiere su participación en la degradación y mineralización de materia vegetal (Mandic-Mulec, 2015). Además, debido a una variedad de actividades de celulasa y xilanasas, mostraban un alto potencial de descomposición lignocelulósica (Mandic-Mulec, 2015), o la actividad quitinolítica que caracteriza a otras, facilitando la degradación de paredes celulares de hongos y exoesqueletos de insectos (Gomaa, 2012; Pleban *et al.* 1997; Solanki *et al.* 2012; Xiao *et al.* 2009). Dentro de Clostridiaceae se encuentran especies que fermentan una gran variedad de carbohidratos (polisacáridos y proteínas), produciendo alcoholes, ácidos grasos de cadena corta y vitaminas (Clements *et al.* 2007; Keating *et al.* 2021). En Enterobacteriaceae se encuentran aquellos miembros fijadores de oxígeno, los cuales, junto con algunos asociados fúngicos, pueden concentrar nitrógeno en las larvas en desarrollo (Klepzig y Six, 2004), además de especies que fermentan glucosa y reducen los nitratos a nitritos (Donnenberg, 2014), finalmente; Streptomyceae, que alberga organismos que se encargan, entre otras cosas, de fijar nitrógeno (Chater, 2017).

La presencia de la familia de virus *Rountreeviridae* en el microbioma de los organismos examinados en este estudio puede estar relacionado a una asociación con fagos que infectan a las bacterias del género *Enterococcus* (Krupovic, 2021). Sin embargo, no se encontró información adicional con la que se pudiera complementar la hipótesis de esta asociación. Asimismo, en la familia viral *Myoviridae* se han reportado fagos en especies del género *Staphylococcus* (Deghorain y Van Melderren, 2012), aunque se sabe que también

pueden infectar un amplio espectro de huéspedes bacterianos, como enterobacterias o proteobacterias (Maniloff *et al.* 1999). Finalmente, la familia *Herpesviridae* estuvo igualmente presente en la mayoría de los organismos de estudio, sin embargo, aunque no hay reportes de la presencia de esta familia viral en insectos, Guinet *et al.* 2023 encontraron 36 EVEs en diversos grupos de Hymenoptera que derivaron de seis familias virales de las que no se sabía previamente que infectan insectos, entre ellas *Herpesviridae*, por lo cual se hipotetiza que los verdaderos donantes virales pueden pertenecer a clados virales desconocidos que sí infectan insectos.

Retos de las estrategias y/o herramientas bioinformáticas para la identificación de EVEs

A pesar de que existen pocas estimaciones de las tasas de mutación de los genomas de los PDV, los análisis de cuatro virus de ADNdc arrojaron tasas de mutación que oscilaron entre 10^{-7} y 10^{-8} sustituciones de bases/pb/generación (Keightley *et al.* 2009; Lynch, 2010). Los genes de bracovirus también parecen estar evolucionando más rápido que otros genes en el genoma de la avispa (Burke y Strand, 2012). Por ejemplo, la identidad de aminoácidos de los “genes de referencia” en *C. congregata* y *C. initiatus* es muy alta (ArgK, 100%; EF1- α , 99%; Opsina, 83%; Wingless, 94%) (Murphy *et al.* 2008). A pesar de todo esto, se necesitan más estudios para determinar si los genes de los PDV evolucionan más rápido debido a la evolución adaptativa o a una mayor tasa de mutación de loci provirales en el genoma de la avispa (Burke y Strand, 2012). Esto podría ser un primer reto para la detección de EVEs en parasitoides, ya que a pesar de que ha habido grandes avances de secuenciación genómica y la innovación de enfoques bioinformáticos, la rápida tasa de mutación de los genes virales hace que el diseño de *primers* o sondas sea un desafío, especialmente cuando se realiza la detección de diversos linajes virales (Sharanowski *et al.* 2020).

Otro problema para la detección de EVEs ha sido el desconocimiento la organización de los componentes provirales (segmentos provirales organizados en *loci* y genes de replicación viral) entre sí y en qué parte de los genomas de las avispas residen la mayoría de estos genes (Burke *et al.* 2014). Por lo tanto, actualmente los exámenes histológicos y el análisis de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de las regiones reproductivas son mucho más efectivos (Santos *et al.* 2022) para determinar si cierta especie de avispa es portadora de estos elementos endógenos.

En este trabajo se utilizaron las herramientas HMMER y PSI-BLAST, las cuales son estrategias complementarias. Por un lado, HMMER permite detectar coincidencias altamente

divergentes con mayor sensibilidad para hacer alineaciones (Eddy, 2011) y PSI-BLAST puede detectar relaciones débiles o muy conservadas entre la(s) secuencia(s) de consulta y otras secuencias en la base de datos que no son necesariamente detectables mediante el algoritmo de BLAST estándar (Choudhuri, 2014). Estas características permitieron la identificación de coincidencias entre las secuencias de consulta como las secuencias de las bases de datos que eran divergentes entre sí.

A pesar de que los resultados obtenidos mediante HMMER y PSI-BLAST proporcionan resultados fundamentales para determinar si existe o no la presencia de EVEs, se requirió de otra variante de BLAST, Blastp, para verificar si había alguna otra coincidencia con secuencias de avispas que han sido reportadas con presencia de EVEs (*Fopius arisanus*, *Diachasma alloeum*, *Microplitis demolitor*, *Cotesia congregata*, *Chelonus insularis*, *Venturia canescens*) que pudieron no haber estado presentes en las bases de datos utilizadas. En este caso, se usó la base de datos “non-redundant (nr)”, que abarca secuencias de proteínas de bases de datos no seleccionadas (es decir, de baja calidad) y seleccionadas (alta calidad), como: GenBank/GenPept, trEMBL, SwissProt, RefSeq, PIR y PDB (Bagheri *et al.* 2020). En el particular caso de *Xebolobus* sp. obtuvimos coincidencias con el gen *p33* únicamente en HMMER pero al pasarlo por Blastp no hubo similitud con alguna secuencia viral. Este resultado puede tratarse de un falso positivo en HMMER, ya que el marco de lectura abierto (ORF) era muy pequeño (*i.e.* 38 a.a.) y el e-value no era significativo (0.2).

Implicaciones de la presencia de EVEs en las estrategias de parasitoidismo en Ichneumonoidea

Aunque se han identificado varios EVEs derivados de nudivirus en insectos, hasta la fecha todos los ejemplos de nudivirus endogenizados que continúan con la producción de viriones se encuentran en parasitoides (Petersen *et al.* 2022). Además, las avispas endoparasitoides son de particular interés porque han domesticado repetidamente no solo genes, sino la maquinaria viral completa (Burke *et al.* 2018a; Gauthier *et al.* 2018).

El parasitoidismo cuenta con diferentes estrategias correlacionadas que son pieza clave en las especies más abundantes del planeta, por ejemplo, los teratocitos (Strand, 2014), el veneno (Moreau *et al.* 2015) o los PDV (Strand y Burke, 2014). No obstante, los PDV tienen varias ventajas en comparación con el veneno o los teratocitos, ya que los PDV heredaron de su ancestro viral la capacidad de apuntar e ingresar a células específicas, además de que las proteínas de virulencia de los PDV son producidas por el huésped contra sí mismo, lo que transfiere el costo fisiológico de la producción de proteína de virulencia de la

avispa al huésped (Gauthier *et al.* 2018). La acción de las proteínas de virulencia de los PDV sobre la fisiología del huésped también puede extenderse durante toda la duración del parasitoidismo (Gauthier *et al.* 2018). Los PDV en su conjunto, podrían limitar la resistencia del huésped al enfocarse en diferentes funciones, pero también podría conferir la capacidad de atacar a varias especies de huéspedes (Herniou *et al.* 2013).

Presencia de genes similares a virus filamentosos en genomas de Rogadinae

Varaldi y colaboradores (2003) informaron un caso en el que la avispa endoparasitoide koinobionte *Leptopilina boulardi* (Cynipoidea: Figitidae) que ataca a larvas de *Drosophila*, mostraba la presencia del virus filamentoso *Leptopilina boulardi* (LbFV), el cual se ha reportado que puede heredarse tanto vertical como horizontalmente (Varaldi *et al.* 2003; Martínez *et al.* 2016; Burke *et al.* 2021). LbFV, es un virus de ADNdc que manipula el comportamiento de las hembras parasitoide al aumentar su tendencia a superparasitar, es decir, a poner huevos en larvas de *Drosophila* ya parasitadas (Varaldi *et al.* 2003, 2006). Este virus se transmite verticalmente replicándose en las células del oviducto de las hembras (Varaldi *et al.* 2006), pero al inducir el superparasitismo, el LbFV se beneficia al poder también transmitirse horizontalmente a otras avispas (Varaldi *et al.* 2003). Por el contrario, este comportamiento de superparasitismo implica un costo para la aptitud de las avispas ya parasitadas, lo que lo convierte en un buen ejemplo de manipulación del comportamiento (Gandon *et al.* 2006).

Hasta el momento se sabe que todas las especies estudiadas del género *Leptopilina* tienen como característica común producir VLP en su glándula de veneno (Rizki y Rizki, 1990; Morales *et al.* 2005; Gueguen *et al.* 2011; Di Giovanni *et al.* 2020). Estas partículas se producen en la etapa de la pupa y se almacenan en la glándula de veneno, entonces durante la oviposición, las hembras no solo inyectan su(s) huevo(s), sino también algunas VLP en sus huéspedes *Drosophila* (Di Giovanni *et al.* 2020). Estas últimas al contener las proteínas de virulencia, permiten inducir cambios importantes en los lamelocitos, impidiéndoles iniciar una reacción inmune eficiente contra el huevo del parasitoide (Colinet *et al.* 2007).

El ancestro de EVE en *L. boulardi* (LbEFV) está relacionado con un virus filamentosos que manipula el comportamiento y que también infecta a *L. boulardi* (LbFV), aunque los dos son relativamente divergentes (Di Giovanni *et al.* 2020). Se hipotetiza que la integración de este virus haya sido a consecuencia de un solo evento, ya que todas las especies de *Leptopilina* estudiadas actualmente conservan un conjunto de genes de origen viral (Di Giovanni *et al.* 2020). LbFV representa el primer evento de endogenización de un ancestro de

los NVs y del ancestro de los IVs (Burke *et al.* 2021). Este virus pertenece a una familia viral posiblemente nueva relacionada con los NVs y *Baculoviridae*, pero está más estrechamente relacionado con *Hytrosaviridae* (Abd-Alla *et al.* 2008), con el que forma un grupo monofilético (Lepetit *et al.* 2016). Se sabe que los Hytrosavirus inducen la hipertrofia de las glándulas salivales en las moscas *tse-tse* y las moscas domésticas, aunque también pueden permanecer asintomáticos (Di Giovanni *et al.* 2020). El origen evolutivo de LbFV no está claro, pero es interesante señalar que los hytrosavirus relacionados infectan a Diptera (Lepetit *et al.* 2016). Se hipotetiza que el ancestro de LbFV infectó a un díptero, como *Drosophila*, ya que la relación huésped-parasitoide puede favorecer la ocurrencia de transferencia horizontal (Renault *et al.* 2005). Aunque también se puede hipotetizar que el grupo de LbFV es un representante de una nueva familia de virus de insectos que infectaron ancestralmente a Hymenoptera (Lepetit *et al.* 2016).

El que se hayan encontrado secuencias virales similares a LbFV en *Yelicones* sp. representaría el primer hallazgo de este grupo viral en la subfamilia, lo que requiere de más estudios genómicos para poder identificar la arquitectura viral de estas secuencias en el genoma de sus portadores.

Importancia de datos a escala genómica para la identificación de EVEs

Los avances tecnológicos que han tenido las técnicas de secuenciación masiva en los últimos años han permitido dirigir estudios a nuevos enfoques para el descubrimiento de EVEs, desde ADN clonal o dirigido (Bézier *et al.* 2009) hasta la amplificación de ARNm de genes virales conocidos (Hayakawa *et al.* 1994; Yamanaka *et al.* 1996). La secuenciación del genoma ha permitido la caracterización de la dispersión de genes virales, la sintenia, la historia filogenética y otras características más allá de los genes únicos y, por lo tanto, se ha convertido en una estrategia muy útil de validar si los virus están endogenizados (Espagne *et al.* 2004; Webb *et al.* 2006; Tanaka *et al.* 2007; Desjardins *et al.* 2008; Bézier *et al.* 2009).

Otra forma en la que se han identificado EVEs es mediante la detección de clones genómicos de BAC, lo que ha permitido demostrar que los segmentos provirales de BV residen en múltiples loci de los genomas de las avispa (Bézier *et al.* 2009, 2013; Herniou *et al.* 2013).

Perspectivas

Se plantea que estudios posteriores incluyen la secuenciación del genoma completo de avispas de la subfamilia Rogadinae lo cual permitirá caracterizar la arquitectura de los endovirus presentes en esta subfamilia.

El campo de estudio de los elementos virales endógenos en las familias de Ichneumonoidea es muy amplio y poco conocido. A pesar de esto, últimamente ha habido grandes avances en los cuales se ha podido descubrir la presencia de EVEs en algunas subfamilias, además de poder empezar a conocer su historia evolutiva. El descubrimiento de nuevos virus sugiere que la domesticación de estos puede ser más común de lo que se pensaba y que los virus involucrados son más diversos y se han integrado más recientemente que los Bracovirus y los Ichnovirus (Burke *et al.* 2018; Burke *et al.* 2021; Santos *et al.* 2022).

La implementación de los datos genómicos para la investigación de EVEs ha permitido realizar buenas estrategias para su identificación, sin embargo, aún no han logrado ser lo suficientemente eficaces, ya que se tienen tasas altas de falsos positivos (Santos *et al.* 2022).

CONCLUSIONES

- Se identificó que las bacterias son el grupo más abundante en el microbioma de las especies de rogadinos analizados en este estudio. Las familias bacterianas: Bacillaceae, Clostridiaceae, Enterobacteriaceae y Streptomyetaceae se encontraron presentes en todos los organismos de estudio.
- En cuanto a grupos de organismos virales, la familia *Rountreeviridae* se encontró en 13 de las 16 especies en las que se analizó el microbioma. Estos virus se asocian a un estilo de vida virulento por parte de los fagos que infectan bacterias que pertenecen al género *Enterococcus*.
- Por medio de búsquedas exhaustivas de similitud e identificación de genes centrales antiguos, en una especie del género *Yelicones* se encontraron coincidencias con el virus filamentoso *Leptopilina boulardi* (LbFV), el cual se ha identificado en diferentes especies de insectos. Esto en conjunto con los resultados de los análisis filogenéticos, ayudó a establecer la primera evidencia de la presencia de elementos virales endógenos en la subfamilia de avispas endoparasitoides Rogadinae.

REFERENCIAS

- Abd-Alla, A.M.M., Cousserans, F., Parker, A.G., Jehle, J.A., Parker, N.J., Vlak, J.M., Robinson, A.S. y Bergoin, M. (2008). Genome analysis of a *Glossina pallidipes* salivary gland hypertrophy virus reveals a novel, large, double-stranded circular DNA virus. *J Virol.* 82(9), 4595-4611.
- Acosta G., D.E. (2022). Diversidad microbiológica asociada a datos de RADSeq de escarabajos descortezadores del género *Dendroctonus* [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Adler, P. y Footitt, R. (2009). *Insect Biodiversity*. (1a ed.). Blackwell Publishing Ltd.
- Adler, P. y Footitt, R. (2017). *Insect Biodiversity*. (2a ed.). John Wiley & Sons Ltd.
- Albrecht, U., Wyler, T., Pfister-Wilhelm, R., Gruber, A., Stettler, P., Heiniger, P., Kurt, E., Schumperli, D. y Lanzrein, B. (1994). Polydnavirus of the parasitic wasp *Chelonus inanitus* (Braconidae): Characterization, genome organization and time point of replication. *J Gen Virol.* 75, 3353-3363.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. y Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25(17), 3389-3402. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- Altschul, S.F. (2014). BLAST Algorithm. eLS
- Amat-García, G. y Fernández, F. (2011). La diversidad de insectos (Arthropoda: Hexapoda). En Colombia I. Entogntha a Polyneoptera. *Act Biol Colomb.* 16(2), 205-219.
- Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data.
- Apablaza, H. J. (2000). Introducción a la entomología general y agrícola (3a ed, pp. 2-5). Ediciones Universidad Católica de Chile.

- Bagheri, H., Dyer, R., Severin, A.J. y Rajan, H. (2020). Comprehensive Analysis of Non Redundant Protein Database. Res Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-54568/v1>
- Baird, N., Etter, P., Atwood, T., Currey, M., Shiver, A., Lewis, Z., Selker, E., Cresko, W. y Johnson, E. (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. PLoS One 3(19), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A.A., Dvorkin, M., Kulikov, A.S., Lesin, V.M., Nikolenko, S.I., Pham, S., Prjibelski, A.D., Pyshkin, A.V., Sirotkin, A.V., Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M.A. y Pevzner, P.A. (2012). SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. J Comput Biol. 19(5), 455-477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Basset, Y., Cizek, L., Cuénoud P., Didham, R., Guilhaumon, F., Missa, O., Novotny, V., Ødegaard, F., Roslin, T., Schmidl, J., Tishechkin, A., Winchester, N., Roubik, D., Aberlenc, H., Bail, J., Barrios, H., Bridle, J., Castaño-Meneses, G., Corbara, B., Curletti, G., Duarte da Rocha, W., De Bakker, D., Delabie, J., Dejean, A., Fagan, L., Floren, A., Kitching, R., Medianero, E., Miller, S., Gama de Oliveira, E., Orivel, J., Pollet, M., Rapp, M., Ribeiro, S., Roisin, Y., Schmidt, J., Sørensen, L. y Leponce, M. (2012). Arthropod diversity in a tropical forest. Science 338, 1481-1484. <https://doi.org/10.1126/science.1226727>
- Beard, C.B., Dotson, E.M., Pennington, P.M., Eichler, S., Cordon-Rosales, C. y Durvasula, R. (2001). Bacterial symbiosis and paratransgenic control of vector-borne Chagas disease. Int J Parasitol. 31, 621-627. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(01\)00165-5](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(01)00165-5)
- Beckage, N. E. (1998). Parasitoids and polydnaviruses. Bioscience 48, 305-311.
- Behar, A., Yuval, B. y Jurkevitch, E. (2008). Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) and their impact on host longevity. J Insect Physiol. 54, 1377-1383. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.07.011>
- Béliveau, C., Cohen, A., Stewart, D., Periquet, G., Djoumad, A., Kuhn, L., Stoltz, D., Boyle, B., Volkoff, A.N., Herniou, E.A, Drezen, J.M. y Cusson, M. (2015). Genomic and Proteomic Analyses Indicate that Banchine and Campoplegine polydnaviruses

Have Similar, if Not Identical, Viral Ancestors. *J Virol.* 89(17), 8909-8921.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01001-15>

- Berasategui, A., Shukla, S., Salem, H. y Kaltenpoth, M. (2015). Potential applications of insect symbionts in biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100, 1567-1577.
<https://doi.org/10.1007/s00253-015-7186-9>
- Bernal, J.S. (2007). Biología, Ecología y Etología de Parasitoides. En L.A. Rodríguez del Bosque y H.C. Arredondo-Bernal (Eds.) *Teoría y Aplicación del Control Biológico* (pp. 61-74). Prometeo Editores
- Beutel, R. G., Friedrich, F., Yang, X-K. y Ge, S-Q. (2013). Insect Morphology and Phylogeny. De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783110264043>
- Bézier, A., Annaheim, M., Herbinière, J., Wetterwald, C., Gyapay, G., Bernard-Samain, S., Wincker, P., Roditi, I., Heller, M., Belghazi, M., Pfister-Wilhem, R., Periquet, G., Dupuy, C., Huguet, E., Volkoff, A.N., Lanzrein, B. y Drezen, J.M. (2009). Polydnviruses of braconid wasps derive from an ancestral nudivirus. *Science* 323(5916), 926-930. <https://doi.org/10.1126/science.1166788>
- Bézier, A., Louis, F., Jancek, S., Periquet, G., Thézé, J., Gyapay, G., Musset, K., Lesobre, J., Lenoble, P., Dupuy, C., Gundersen-Rindal, D., Herniou, E. A., Drezen, J. M. (2013). Functional endogenous viral elements in the genome of the parasitoid wasp *Cotesia congregata*: insights into the evolutionary dynamics of bracoviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 368(1626), 20130047.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0047>
- Bhagwat, M. y Aravind, L. (2007). Capítulo 10: PSI-BLAST Tutorial. En N.H. Bergman (Ed.) *Comparative Genomics: Volumes 1 and 2*. Humana Press.
- Blaimer, B.B., Santos, B.F., Cruaud, A., Gates, M.W., Kula, R.R., Mikó, I., Rasplus, J-Y., Smith, D.R., Talamas, E.J., Brady, S.G. y Buffington, M.L. (2023). Key innovations and the diversification of Hymenoptera. *Nat Commun.* 14, 1212.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-36868-4>
- Bolger, A. M., Lohse, M. y Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30(15), 2114-2120.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>

- Bonning, B.C. (2020). The insect virome: opportunities and challenges. *Curr Issues Mol Biol.* 34, 1-12. <https://doi.org/10.21775/cimb.034.001>
- Boogaard, B., van Oers, M.M., van Lent, J.W.M. (2018). An advanced view on baculovirus per os infectivity factors. *Insects* 9(3), 84. <https://doi.org/10.3390/insects9030084>
- Boone, C., Six, D., Zheng, Y. y Raffa, K.F. (2008). Parasitoids and dipteran predators exploit volatiles from microbial symbionts to locate bark beetles. *Environ Entomol.* 37, 150-161. [https://doi.org/10.1603/0046-225x\(2008\)37\[150:padpev\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0046-225x(2008)37[150:padpev]2.0.co;2)
- Branstetter, M.G., Longino, J.T., Ward, P.S. y Faircloth, B.C. (2017). Enriching the ant tree of life: enhanced UCE bait set for genome-scale phylogenetics of ants and other Hymenoptera. *Methods Ecol. Evol.* 8, 768-776. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12742>
- Brune, A. (2018). Methanogens in the digestive tract of termites. En J.H.P. Hackstein (Ed.). (Endo)symbiotic Methanogenic Archaea (pp.81-101). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-98836-8_6
- Burand, J.P. (1998). Nudiviruses. En L.K. Miller y L.A. Ball (Eds.) *The Insect Viruses* (pp. 69-90). Springer US.
- Burke, G.R., Hines, H.M. y Sharanowski, B.J. (2021). The presence of ancient core genes reveals endogenization from diverse viral ancestors in parasitoid wasps. *Genome Biol Evol.* 13(7), 1-23. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab105>
- Burke, G.R., Simmonds, T.J., Sharanowski, B.J. y Geib, S.M. (2018a). Rapid viral symbiogenesis via changes in parasitoid wasp genome architecture. *Mol Biol Evol.* 35(10), 2463-2474. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy148>
- Burke, G.R., Thomas, S.A., Eum, J.H. y Strand, M.R. (2013). Mutualistic polydnviruses share essential replication gene functions with pathogenic ancestors. *PLoS Pathog.* 9(5), e1003348. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003348>
- Burke, G.R., Walden, K.K.O., Whitfield, J.B., Robertson, H.M. y Strand, M.R. (2014). Widespread genome reorganization of an obligate virus mutualist. *PLOs Genetics* 10(9), e1004660. <https://doi:10.1371/journal.pgen.1004660>

- Burke, G.R., Walden, K.K.O., Whitfield, J.B., Robertson, H.M. y Strand, M.R. (2018b). Genome report: whole genome sequence of the parasitoid wasp *Microplitis demolitor* that harbors an endogenous virus mutualist. *G3* 8, 2875-2880. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200308>
- Burke, G.R. (2019). Common themes in three independently derived endogenous nudivirus elements in parasitoid wasps. *Curr Opin Insect Sci.* 32, 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.10.005>
- Burke, G.R. y Strand, M.R. (2012). Polydnviruses of parasitic wasps: domestication of viruses to act as gene delivery vectors. *Insects* 3, 91-119. <https://doi.org/10.3390/insects3010091>
- Butcher, B.A., Zaldívar-Riverón, A., Van De Kamp, T., Dos Santos Rolo, T., Baumbach, T. y Quicke, D.L.J. (2014). Extension of historical range of Betylobraconinae (Hymenoptera: Braconidae) into Palaearctic Region based on a Baltic amber fossil, and description of a new species of *Mesocentrus* Szépligeti from Papua New Guinea. *Zootaxa* 3860, 449-463. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3860.5.4>
- Butcher, B.A. y Quicke, D.L.J. (2014). Three new species of *Kerevata* (Braconidae: Rogadinae: Clinocentrini) from mainland Papua New Guinea. *Zootaxa* 3811(3), 338. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3811.3.4>
- Campos, D y Sharkey, M. (2006). Familia Braconidae. En F. Fernández, y M. Sharkey. (Eds.), *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical* (pp.331-384). Sociedad Colombiana de Entomología.
- Carpenter, G. H. (1928). *The Biology of Insects* (pp. 473). Sidgwick and Jackson.
- Ceccarelli, F.S., Sharkey, M.J. y Zaldívar-Riverón, A. (2012). Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Mol Phylogenet Evol.* 62, 485-495. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.10.018>
- Chamberlain, S. A. y Szöcs, E. (2013). taxize: taxonomic search and retrieval in R. *F1000Research*.

- Chapman, A.D. (2009). Numbers of living species in Australia and the world 2nd edition. En Department of Sustainability, E., Water, Population and Communities (Eds.). Australian Biological Resources Study (pp. 1-84).
- Chapman R., Simpson, S. y Douglas, A. (2012). *The Insects: Structure and Function*. Cambridge University Press.
- Charif, D. y Lobry, J. R. (2007). SeqinR 1.0-2: a contributed package to the R project for statistical computing devoted to biological sequences retrieval and analysis. En U. Bastolla, M. Porto, H.E. Roman y M. Vendruscolo (Eds.) *Structural approaches to sequence evolution* (pp. 207-232). Springer.
- Chater, K.F. (2017). *Streptomyces*. Reference module in life sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.07210-1>
- Chaves, S., Neto, M. y Tenreiro, R. (2009). Insect-symbiont systems: from complex relationships to biotechnological applications. *Biotechnol. J.* 4, 1753-1765. <https://doi.org/10.1002/biot.200800237>
- Choudhuri, S. (2014). *Bioinformatics for Beginners: Genes, Genomes, Molecular Evolution, Databases and Analytical Tools*. Academic Press.
- Clements, K.D., Pasch, I.B.Y. y Moran, D. (2007). *Clostridia* dominate 16S rRNA gene libraries prepared from the hindgut of temperate marine herbivorous fishes. *Mar Biol* 150, 1431-1440. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0443-9>
- Cock, M., Biesmeijer, J., Cannon, R., Gerard, P., Gillespie, D., Jiménez, J., Lavelle, P. y Raina, S. (2012). The positive contribution of invertebrates to sustainable agriculture and food security. *CAB Reviews* 7, 1-27. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20127043>
- Coffman, K.A. y Burke, G.R (2020). Genomic analysis reveals an exogenous viral symbiont with dual functionality in parasitoid wasps and their hosts. *PLoS Pathog.* 16(11), e1009069. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009069>
- Colinet, D., Schmitz, A., Depoix, D., Crochard, D. y Poirié, M. (2007). Convergent use of RhoGAP toxins by eukaryotic parasites and bacterial pathogens. *PLoS Pathog.* 3(12), e203.

- Colman, D.R, Toolson, E.C. y Takacs-Vesbach, C.D. (2012). Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? *Mol Ecol.* 21(20), 5124-5137. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05752.x>
- Coronado-Blanco, J y Zaldívar-Riverón, A. (2014). Biodiversidad de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) en México. *Rev Mex Biodivers.* 85. <https://doi.org/10.7550/rmb.32000>
- Daly, H., Doyen, J. y Purcell, A. (1998). *Introduction to Insect Biology and Diversity.* (2a ed.). Oxford University Press.
- Davey, J., Hohenlohe, P., Etter, P., Boone, J., Catchen, J. y Blaxter. M. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat Rev Genet.* 12, 499-510. <https://doi.org/10.1038/nrg3012>
- Davis, R., Baldauf, S. y Mayhew, P. (2010). The origins of species richness in the Hymenoptera: insights from a family-level supertree. *BMC Evol Biol.* 10, 109. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-109>
- de Almeida, L., Moraes, L., Trigo, J., Omoto, C. y Consoli, F. (2017). The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: A potential source for biotechnological exploitation. *PLoS ONE* 12(3), 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174754>
- DeFoliart, G. R. (1999). Insects as food: Why the Western Attitude Is Important. *Ann Rev Entomol.* 44, 21-50. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.21>
- Deghorain, M. y Van Melderren, L. (2012). The Staphylococci Phages Family: An Overview. *Viruses* 4, 3316-3335. <https://doi.org/10.3390/v4123316>
- Desjardins, C.A., Gundersen-Rindal, D.E., Hostetler, J.B., Tallon, L.J., Fadrosch, D.W., Fuester, R.W., Pedroni, M.J., Hass, B.J., Schatz, M.C., Jones, K.M., Cabtree, J., Forberger, H. y Nene, V. (2008). Comparative genomics of mutualistic viruses of *Glyptapanteles* parasitic wasps. *Genome Biol.* 9, R183. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-12-r183>
- Di Giovanni, D., Lepetit, D., Guinet, B., Bennetot, B., Boulesteix, M., Couté, Y., Bouchez, O., Ravallec, M. y Varaldi, J. (2020). A behavior-manipulating virus

relative as a source of adaptive genes for *Drosophila* parasitoids. *Mol Biol Evol.* 37(10), 2791-2807. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa030>

- Dillon, R.J. y Dillon, V.M. (2004). The gut of insects: nonpathogenic interactions. *Annu Rev Entomol.* 49(1), 71-92. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123416>
- Donnenberg, M.S. (2014). Human pathogenic Enterobacteriaceae. *Mand Douglas, Bennett's Princ Pract Infect Dis* 2, 2503-2517. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00136-7>
- Dowton, M., Belshaw, R., Andrew, A. y Quicke, D.L.J. (2002). Simultaneous molecular and morphological analysis of the Braconid relationships (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) indicates independent mt-tRNA gene inversions within a single wasp family. *J Mol Evol.* 2(54), 210-226. <https://doi.org/10.1007/s00239-001-0003-3>
- Duffy, S., Shackelton, L.A. y Holmes, E.C. (2008). Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat Rev Genet.* 9, 267-276. <https://doi.org/10.1038/nrg2323>
- Eddy, S. R. (2011). Accelerated profile HMM searches. *PLoS Comput Biol.* 7(10), e1002195.
- Eddy, S.R. (2020). HMMER User's Guide [Archivo PDF]. <http://eddylab.org/software/hmmer/Userguide.pdf>
- Engel, P. y Moran, N. (2013). The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiol Rev.* 37, 699-735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>
- Erwin, T. L. (2004). The biodiversity question: how many species of terrestrial arthropods are there? En Lowman, M. y H. Rinker (Eds), *Forest Canopies* (2a ed., pp. 259-269). Elsevier Academic Press.
- Espagne, E., Dupuy, C., Huguet, E., Cattolico, L., Provost, B., Martins, N., Poirie, M., Periquet, G. y Drezen, J.M. (2004). Genome sequence of a polydnavirus: insights into

symbiotic virus evolution. *Science* 306(5694), 286-289.
<https://doi.org/10.1126/science.1103066>

- Fakhruddin, Said, F., FahadShah, S., Iqbal, T., Sabahatullah, M. y Sohail, K. (2018). An illustrated key to the subfamilies of Braconidae (Hymenoptera) in Chitral district of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *J Entomol Zool Stud.* 6(2), 878-885.
- Farahani, S., Asghar T., A., van Achterberg, C. y Rakhshani, E. (2015). A review of the subfamily Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) from Iran. *Zootaxa* 3973(2), 227-250. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3973.2.2>
- Faulkner, P., Kuzio, J., Williams, G.V. y Wilson, J.A. (1997). Analysis of p74, a PDV envelope protein of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus required for occlusion body infectivity in vivo. *J Gen Virol.* 78,3091-3100. <https://doi.org/10.1099/0022.1317-78-12-3091>
- Feschotte, C. y Gilbert, C. (2012). Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology. *Nat Rev Genet.* 13(4), 283-96. <https://doi.org/10.1038/nrg3199>
- Forbes, A. A., Bagley, R. K., Beer, M. A., Hippee, A. C. y Widmayer, H. A. (2018). Quantifying the unquantifiable: why Hymenoptera, not Coleoptera, is the most speciose animal order. *BMC Ecol.* 18(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0176-x>
- Francki, R.I.B., Fauquet, C.M., Knudson, D.L. y Brown, F. (1991). Classification and Nomenclature of Viruses, Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer-Verlag.
- Frederici, B.A. y Bigot, Y. (2003). Origin and evolution of polydnviruses by symbiogenesis of insect DNA viruses in endoparasitic wasps. *J Insect Physiol.* 49, 419-432. [https://doi.org/10.1016/s0022-1910\(03\)00059-3](https://doi.org/10.1016/s0022-1910(03)00059-3)
- Gandon, S., Rivero, A. y Varaldi, J. (2006). Superparasitism evolution: adaptation or manipulation? *Am Nat.* 167(1), E1-E22. <https://doi.org/10.1086/498398>
- Gauld, I.D. y Bolton, B. (1988). *The Hymenoptera* (pp. 322). Oxford Univ Press.

- Gauthier, J., Drezen, J.M. y Herniou, E.A. (2018). The recurrent domestication of viruses: major evolutionary transitions in parasitic wasps. *Parasitology* 145(6), 713-723. <https://doi.org/10.1017/S0031182017000725>
- Gilbert, C. y Belliardo, C. (2022). The diversity of endogenous viral elements in insects. *Curr Opin Insect* 49, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.11.007>
- Glenn, T.C., Nilsen, R., Kieran, T.J., Finger, J.W. Jr, Pierson, T.W., Bentley, K.E., Hoffberg, S., Louha, S., García-De León, F.J, del Río Portilla, M.A., Reed, K.D., Anderson, J.L., Meece, J.K., Aggery, S.E., R. Rekaya, R., Alabady M., Belanger M., Winker, K. y Faircloth, B.C. (2016). Adapterama I: universal stubs and primers for 384 unique dual-indexed or 147,456 combinatorially-indexed Illumina libraries (iTru & iNext). *PeerJ* 7: e7755. <https://doi.org/10.7717/peerj.7755>
- Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctvs32rmp>
- Gomaa, E.Z. (2012). Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: their potential in antifungal biocontrol. *J Microbiol.* 50(1), 103-11. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1343-y>
- Grabherr, M. G., Haas, B. J., Yassour, M., Levin, J. Z., Thompson, D. A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., Zeng, Q., Chen, Z., Mauceli, E., Hacohen, N., Gnirke, A., Rhind, N., di Palma, F., Birren, B.W., Nusbaum, C., Lindblad-Toh, K., Friedman, N. y Regev, A. (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotech.* 29(7), 644-652. <https://doi.org/10.1038/nbt.1883>
- Green, E. y Guyer, M.S. (2011). Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside. *Nature* 470(7333), 204-13. <https://doi.org/10.1038/nature09764>
- Gueguen, G., Rajwani, R., Paddibhatla, I., Morales, J. y Govind, S. (2011). VLPs of *Leptopilina boulardi* share biogenesis and overall stellate morphology with VLPs of the heterotoma clade. *Virus Res.* 160(1-2), 159-65. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.06.005>.
- Gullan P. y Cranston, P. (2010). *The insects: An outline of entomology* (4a ed.). Blackwell Publishing.

- Gurung, K., Wertheim, B. y Falcao Salles, J. (2019). The microbiome of pest insects: it is not just bacteria. *Entomol Exp Appl.* 167, 156–170. <https://doi.org/10.1111/eea.12768>
- Hayakawa, Y., Yazaki, K, Yamanaka, A. y Tanaka, T. (1994). Expression of polydnavirus genes from the parasitoid wasp *Cotesia kariyai* in two noctuid hosts. *Insect Mol Biol* 3, 97-103.
- Herniou, E., Hget, E., Thézé, J., Bézier, A., Periquet, G. y Drezen, J.M. (2013). When parasitic wasps hijacked viruses: genomic and functional evolution of polydnaviruses. *Philos Trans R Soc Lond. B.* 368, 1-13. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0051>
- Herniou, E.A., Luque, T., Chen, X., Vlak, J.M., Winstanley, D., Cory, J.S. y O'Reilly, D.R. (2001). Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny. *J Virol.* 75(17), 8117-8126. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.17.8117-8126.2001>
- Hoffmann, A.A., Montgomery, B.L., Popovici, J., Iturbe-Ormaetxe, I., Johnson, P.H., Muzzi, F., Greenfield, M., Durkan, M., Leong, Y. S., Dong, Y., Cook, H., Axford, J., Callahan, A. G., Kenny, N., Omodei, C., McGraw, E., Ryan, P., Ritchie, S., Turelli, M. y O'Neill, S. (2011). Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature* 476,454-457. <https://doi.org/10.1038/nature10356>
- Holmes, E.C. (2011). What does virus evolution tell us about virus origins? *J Virol* 85(11), 5247-5251. <https://doi.org/10.1128/JVI.02203-10>
- Holmes, I y Rabosky, D. (2018). Natural history bycatch: a pipeline for identifying metagenomic sequences in RADseq data. *PeerJ.* 6, e4662. <https://doi.org/10.7717/peerj.4662>
- Hongoh, Y. (2010). Diversity and genomes of uncultured microbial symbionts in the termite gut. *Biosci Biotechnol Biochem.* 74(6), 1145-1151. <https://doi.org/10.1271/bbb.100094>
- Huber, J.T. (2017). Biodiversity of Hymenoptera. En Adler, P. y R. Foottit (Eds.), *Insect Biodiversity* (2a ed., pp. 419-462). John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118945568.ch12>

- Iyer, J.T., Balaji, S., Koonin, E.V. y Aravind, L. (2006). Evolutionary genomics of nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Virus Res.* 117, 156-184. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.01.009>
- Iyer, L.M., Aravind, L. y Koonin, E.V. (2001). Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. *J Virol.* 75, 11720-11734. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.23.11720-11734.2001>
- Jasso-Martínez, J.M., Quicke, D.L.J., Belokobylskij, S.A., Mesa-Lázaro, R. y Zaldívar-Riverón, A. (2021). Phylogenomics of the lepidopteran endoparasitoid wasp subfamily Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) and related subfamilies. *System Entomol.* 46(1), 1-13. <https://doi.org/10.1111/syen.12449>
- Jasso-Martínez, J.M., Quicke, D.L.J., Belokobylskij, S.A., Santos, B.F., Fernández-Triana, J.L., Kula, R.R. y Zaldívar-Riverón, A. (2022a). Mitochondrial phylogenomics and mitogenome organization in the parasitoid wasp family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *BMC Ecol Evol.* 22, 46. <https://doi.org/10.1186/s12862-022-01983-1>
- Jasso-Martínez, J.M., Santos, B.F., Zaldívar-Riverón, A., Fernández-Triana, J.L., Sharanowski, B.J., Richter, R., Dettman, J.R., Blaimer, B.B., Brady, S.G. y Kula, R.R. (2022b). Phylogenomics of braconid wasps (Hymenoptera, Braconidae) sheds light on classification and the evolution of parasitoid life history traits. *Mol Phylogenet Evol.* 173. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107452>
- Jehle, J.A., Abd-Alla, A.M. y Wang, Y. (2013). Phylogeny and evolution of *Hytrosaviridae*. *J Invertebr Pathol* 112, S62-S67. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.07.015>
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. y Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30(14), 3059-3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
- Kawato, S., Shitara, A., Wang, Y., Nozaki, R., Kondo, H. y Hirono, I. (2018). Crustacean Genome Exploration Reveals the Evolutionary Origin of White Spot Syndrome Virus. *J Vir.* 93(3). <https://doi.org/10.1128/JVI.01144-18>

- Keating, C., Bolton-Warberg, M., Hinchcliffe, J. Davies, R., Whelan, S., Wan, A.H.L, Fitzgerald, R.D., Davies, S.J., Ijaz, U.Z. y Smith, C.J. (2021). Temporal changes in the gut microbiota in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) outweigh the response to diet supplementation with macroalgae. *Anim Microbiome* 3(7). <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00065-1>
- Keightley, P.D., Trivedi, U., Thompson, M., Oliver, F., Kumar, S. y Blaxter, M.L. (2009). Analysis of the genome sequences of three *Drosophila melanogaster* spontaneous mutation accumulation lines. *Genome Res.* 19, 1195-1201. <https://doi.org/10.1101/gr.091231.109>
- Kijima, T.E. e Innan, H. (2010). On the estimation of the insertion time of LTR retrotransposable elements. *Mol Biol Evol.* 27(4), 896-904. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp295>
- Kikhno, I., Gutierrez, S., Croizier, L., Croizier, G. y Ferber, M.L. (2002). Characterization of pif, a gene required for the per os infectivity of *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrovirus. *J Gen Virol.* 83, 3013-3022. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-12-3013>
- Klepzig, K.D. y Six, D.L. (2004). Bark beetle fungal symbiosis: context dependency in complex associations. *Symbiosis* 37, 189-205.
- Krams, I.A., Kecko, S., Joers, P., Trakimas, G., Elferts, D., Krams, R., Luoto, S., Rantala, M., Inashkina, I., Gudraa, D., Fridmanis, D., Contreras-Garduño, J., Grantiņa-Ieviņa, L. y Krama, T. (2017). Microbiome symbionts and diet diversity incur costs on the immune system of insect larvae. *J Exp Biol.* 220(22), 4204-4212. <https://doi.org/10.1242/jeb.169227>
- Krishnan, M., Bharathiraja, C., Pandiarajan, J., Prasanna, V.A., Rajendhran, J. y Gunasekaran, P. (2014). Insect gut microbiome - An unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pac J Trop Biomed.* 4, S16-S21. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C95>
- Krupovic, M., Turner, D., Morozova, V., Dyall-Smith, M., Oksanen, H.M., Edwards, R., Dutilh, B.E., Lehman, S.M., Reyes, A., Baquero, D.P., Sullivan, M.B., Uchiyama, J., Nakavuma, J., Barylski, J., Young, M.J., Du, S., Alfenas-Zerbini, P., Kushkina, A.,

Kropinski, A.M., Kurtböke, I., Brister, J.R., Lood, C., Sarkar, B.L., Yigang, T., Liu, Y., Huang, L., Wittmann, J., Chanishvili, N., van Zyl, L.J., Rumnieks, J., Mochizuki, T., Jalasvuori, M., Aziz, R.K., Łobocka, M., Stedman, K.M., Shkoporov, A.N., Gillis, A., Peng, X., Enault, F., Knezevic, P., Lavigne, R., Rhee, S.K., Cvirkaite-Krupovic, V., Moraru, C., Moreno, A.I., Poranen, M.M., Millard, A., Prangishvili, D. y Adriaenssens, E.M. (2021). Bacterial Viruses Subcommittee and Archaeal Viruses Subcommittee of the ICTV: update of taxonomy changes in 2021. *Arch Virol.* 166(11), 3239-3244. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05205-9>

- Lai, Q., Wu, W., Li, A., Wang, W., Yuan, M. y Yang, K. (2018). The 38K-mediated specific dephosphorylation of the viral core protein P6.9 plays an important role in the nucleocapsid assembly of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus. *J Virol.* 92(2), e01989-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01989-17>
- Lander, E.S. (2011). Initial impact of the sequencing of the human genome. *Nature* 470(7333), 187-97. <https://doi.org/10.1038/nature09792>
- Lapointe, R., Tanaka, K. Barney, W. E., Whitfield, J. B., Banks, J. C., Beliveau, C., Stoltz, D., Webb, B. A. y Cusson, M. (2007). Genomic and morphological features of a banchine polydnavirus: comparison with bracoviruses and ichnoviruses. *J Virol.* 81, 6491-6501. <https://doi.org/10.1128/JVI.02702-06>
- Lepetit, D., Gillet, B., Hughes, S., Kraaijeveld, K. y Varaldi, J. (2016). Genome Sequencing of the Behavior Manipulating Virus LbFV Reveals a Possible New Virus Family. *Genome Biol Evol.* 8(12), 3718-3739. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw277>
- Lin, C.L, Lee, J.C, Chen, S.S, Wood, H., Li, M.L., Li, C.F. y Chao, Y.C. (1999). Persistent Hz-1 virus infection in insect cells: evidence for insertion of viral DNA into host chromosomes and viral infection in a latent status. *J Virol.* 73, 128-139. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.1.128-139.1999>
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L. y Law, M. (2012). Comparison of Next Generation Sequencing Systems. *J Biomed Biotechnol.* 251364. <https://doi.org/10.1155/2012/251364>

- López de Heredia, U. (2016). Las técnicas de secuenciación masiva en el estudio de la diversidad biológica. *Munibe, Cienc Nat.* 64. <https://doi.org/10.21630/mcn.2016.64.07>
- López de Heredia, U. y Vázquez-Poletti, J. (2016). RNA-seq analysis in forest tree species: bioinformatics problems and solutions. *Tree Genet Genomes* 12, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-0995-x>
- Luria, S.E., Darnell, J.E., Baltimore, D. y Campbell, A. (1978). *General Virology* (3 ed.). John Wiley & Sons.
- Lynch, M. (2010). Evolution of the mutation rate. *Trends Genet.* 26, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.05.003>
- Maetô, K. y Arakaki, N. (2005). Gregarious emergence of *Macrostromion sumatranum* (Hymenoptera: Braconidae; Rogadinae) from the mummified, full-grown larvae of *Theretra silhetensis* (Lepidoptera: Sphingidae). *Entomol Sci.* 8(2), 131-132. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2005.00107.x>
- Majer, J. D. (1987). The conservation and study of invertebrates in remnants of native vegetation. En Saunders, D., Arnold, G., Burbridge, A. y A. Hopkins (Eds), *Nature Conservation: the Role of Remnants of Native Vegetation* (pp.333-335). Surrey Beatty & Sons
- Mallet, F., Bouton, O., Prudhomme, S., Cheynet, V., Oriol, G., Bonnaud, B., Lucotte, G., Duret, L., y Mandrand, B. (2004). The endogenous retroviral locus ERVWE1 is a bona fide gene involved in hominoid placental physiology. *PNAS* 101(6), 1731-1736. <https://doi.org/10.1073/pnas.0305763101>
- Mandic-Mulec, I., Stefanic, P. y van Elsas, J.D. (2015). Ecology of Bacillaceae. *Microbiol Spec* 3(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TBS-0017-2013>
- Maniloff, J. Ackermann, H-W. y Jarvis, A. (1999). Phage taxonomy and classification. En A. Granoff y R.G. Webster (Eds.), *Encyclopedia of Virology* (2 ed., pp. 1221-1228). Academic Press.
- Martínez, J., Lepetit, D., Ravallec, M, Fleury, F. y Varaldi, J. (2016). Additional heritable virus in the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*: prevalence, transmission

and phenotypic effects. *J Gen Virol.* 97(2), 523-535.
<https://doi.org/10.1099/jgv.0.000360>

- Mason, W.R.M. (1981). The polyphyletic nature of *Apanteles* Foerster (Hymenoptera: Braconidae): A phylogeny and reclassification of Microgastrinae. *Mem Entomol Soc Can.* 147. <https://doi.org/10.4039/entm113115fv>
- McCarthy, C.B. y Theilmann, D.A. (2008). AcMNPV ac143 (odv-e18) is essential for mediating budded virus production and is the 30th baculovirus core gene. *Virology* 375(1), 277-291. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.01.039>
- McLachlin, J.R. y Miller, L.K. (1994). Identification and characterization of vlf-1, a baculovirus gene involved in very late gene expression. *J Virol.* 68, 7746-7756. <https://doi.org/10.1128/JVI.68.12.7746-7756.1994>
- Miller, J. C. (1993). Insect natural history, multispecies interactions and biodiversity in ecosystems. *Biodivers Conserv.* 2, 233-241. <https://doi.org/10.1007/bf00056670>
- Morales, J., Chiu, H., Oo, T., Plaza, R., Hoskins, S. y Govind, S. (2005). Biogenesis, structure, and immune-suppressive effects of virus-like particles of a *Drosophila* parasitoid, *Leptopilina victoriae*. *J Insect Physiol.* 51(2), 181-195. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2004.11.002>
- Moreau, S.J. y Asgari, S. (2015). Venom proteins from parasitoid wasps and their biological functions. *Toxins (Basel)* 7(7), 2385-2412. <https://doi.org/10.3390/toxins7072385>
- Murphy, N., Banks, J., Whitfield, J. y Austin, A. (2008). Phylogeny of the parasitic microgastroid subfamilies (Hymenoptera: Braconidae) based on sequence data from seven genes, with an improved time estimate of the origin of the lineage. *Mol Phylogenet Evol.* 47, 378-395. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.01.022>
- Nguyen, L-T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A. y Minh, B.Q. (2015). IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Mol Biol Evol.* 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- NHGRI. (2020). Shotgun sequencing. National Human Genome Research Institute (NHGRI). <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Secuenciacion-shotgun>

- Nieves-Aldrey, J., Fontal-Cazalla, F. y Fernández, F. (2006). Filogenia y evolución de Hymenoptera. En F. Fernández. y M. Sharkey (Eds.), *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical* (pp. 37-57). Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia. <https://doi.org/10.13140/2.1.3625.6320>
- Nieves-Aldrey, J. y Sharkey, M. (2012). Himenópteros. En P. Vargas y R. Zardoya (Eds.), *El árbol de la vida: sistemática y evolución de los seres vivos* (pp. 322-333). Madrid.
- Norkin, L.C. (2010). *Virology: Molecular Biology and Pathogenesis*. ASM Press.
- Norton, W.N. y Vinson, S.B. (1983). Correlating the initiation of virus replication with a specific pupal developmental phase of an ichneumonid parasitoid. *Cell Tissue Res.* 231, 387-398.
- Okeke, B.C. y Lu, J. (2011). Characterization of a defined cellulolytic and xylanolytic bacterial consortium for bioprocessing of cellulose and hemicelluloses. *Appl Biochem Biotechnol* 163(7), 869-81. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9091-0>.
- Oliver, K., Russell, J., Moran, N. y Hunter, M. (2003). Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *PNAS* 100, 1803-1807. <https://doi.org/10.1073/pnas.0335320100>
- Outtara H.G., Reverchon, S., Nike, S.L. y Nasser, W. (2011). Molecular identification and pectate lyase production by *Bacillus* strains involved in cocoa fermentation. *Food Microbiol* 28(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.020>
- Payne, S. (2017). Chapter 1: Introduction to Animal Viruses. En S. Payne (Ed.), *Viruses: From Understanding to Investigation* (pp. 1-11). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-03894-4>
- Pearson, M.N., Russell, R.L., Rohrmann, G.F. y Beaudreau, G.S. (1988). p39, a major baculovirus structural protein: immunocytochemical characterization and genetic location. *Virology* 167:407-413.
- Peng, W., Wang, J., Wang, W., Liu, Q., Wu, F.X. y Pan, Y. (2012). Iteration method for predicting essential proteins based on orthology and protein-protein interaction networks. *BMC Syst Biol.* 6, 87. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-6-87>

- Peters, R. S., Krogmann, L., Mayer, C., Donath, A., Gunkel, S., Meusemann, K., Kozlov, A., Podsiadlowski, L., Petersen, M., Lanfear, R., Diez, P. A., Heraty, J., Kjer, K. M., Klopstein, S., Meier, R., Poidori, C., Schmitt, T., Liu, S., Zhou, X., Wappler, T., Rust, J., Misof, B. y Niehuis, O. (2017). Evolutionary History of Hymenoptera. *Curr Biol.* 27(7), 1013-1018. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.027>
- Petersen, J.M., Bézier, A., Drezen, J-M. y van Oers, M.M. (2022). The naked truth: An updated review on nudiviruses and their relationship to bracoviruses and baculoviruses. *J Invertebr Pathol.* 189, 107718. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2022.107718>
- Pichon, A., Bézier, A., Urbach, S., Aury, J.M., Jouan, V., Ravallec, M., Guy, J., Cousserans, F., Thézé, J., Gauthier, J., Demetree, E., Schmieder, S., Wurmser, F., Sibut, V., Poirié, M., Colinet, D., da Silva, C., Couloux, A., Barbe, V., Drezen, J.M., y Volkoff, A.N. (2015). Recurrent DNA virus domestication leading to different parasite virulence strategies. *Sci Adv.* 1(10), e1501150. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501150>
- Piel, J. (2009). Metabolites from symbiotic bacteria. *Nat Prod Rep.* 26, 338- 362. <https://doi.org/10.1039/b703499g>
- Pijlman, G.P., Pruijssers, A.J. y Vlak, J.M. (2003). Identification of pif-2, a third conserved baculovirus gene required for per os infection of insects. *J Gen Virol.* 84, 2041-2049. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19133-0>
- Pleban, S., Chernin, L. y Chet, I. (1997). Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*. *Lett Appl Microbiol.* 25(4), 284-8. <http://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00224.x>.
- Quicke, D. L. J., Austin, A. D., Fagan-Jeffries, E. P., Hebert, P. D. N. y Butcher, B. A. (2020). Recognition of the Trachypetidae stat.n. as a new extant family of Ichneumonoidea (Hymenoptera), based on molecular and morphological evidence. *Syst Entomol.* 45(4), 1-12. <https://doi.org/10.1111/syen.12426>
- Quicke, D.L.J., Fagan-Jeffries, E.P., Jasso-Martínez, J.M., Zaldívar-Riverón, A., Shaw, M.R., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Smith, M.A., Hebert, P.D.N., Hrcek, J., Miller, S., Sharkey, M.J., Shaw, S.R. y Butcher, B.A. (2021). A molecular phylogeny

of the parasitoid wasp subfamily Rogadinae (Ichneumonoidea: Braconidae) with descriptions of three new genera. *Syst Entomol.* 46(4), 1019-1044. <https://doi.org/10.1111/syen.12507>

- Quicke, D. L. J., Kuslitzky, W. y Butcher, B. A. (2018). First host record for Old World *Yelicones* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) adds to evidence that they are strictly parasitoids of Pyralidae (Lepidoptera). *Isr J Entomol.* 48, 33-40. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1244102>
- Quicke, D.L.J., Smith, M., Miller, Scott, E., Hreck, J. y Butcher, B. (2012). *Colastomion* Baker (Braconidae, Rogadinae): nine new species from Papua New Guinea reared from Crambidae. *J Hymenop Res.* 28, 85-121. <https://doi.org/10.3897/jhr.28.3484>
- Quicke, D.L.J. (1997). *Parasitic Wasps*. Chapman & Hall.
- Quicke, D.L.J. (2015). *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Evolution and Ecology*. John Wiley & Sons.
- Quicke, D.L.J. y Butcher, B. A. (2015). Description of a new Betylobraconini-like parasitoid wasp genus and species (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Chile. *Zootaxa* 4021(3), 459-466. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4021.3.5>
- Quicke, D.L.J. y Krufft, R. A. (1995). Species of *Yelicones* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) in North America with Descriptions of Two New Species. *Ann Entomol Soc Am* 88(2), 129-138. <https://doi.org/10.1093/aesa/88.2.129>
- Quicke, D.L.J. y Shaw, M.R. (2005). First host records for the rogadine genera *Rogasodes* Chen and He and *Canalirogas* van Achterberg and Chen (Hymenoptera: Braconidae) with description of a new species and survey of mummy types within Rogadinae s. str. *J Nat Hist.* 39, 3525-3542. <https://doi.org/10.1080/00222930500392782>
- Quicke, D.L.J. y van Achterberg, C. (1990). Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Braconidae). *Zool Verh.* 258, 1-95.
- Rajopal, R. (2009). Beneficial interactions between insects and gut bacteria. *Indian J Microbiol.* 49(2), 114-119. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>

- Ramadhar, T.R., Beemelmanns, C., Currie, C.R. y Clardy, J. (2013). Bacterial symbionts in agricultural systems provide a strategic source for antibiotic discovery. *J Antibiot.* 67, 53-58. <https://doi.org/10.1038/ja.2013.77>
- Ramírez-Ahuja, M., Gómez-Govea, M., Lugo-Trampe, A., Borrego-Soto, G., Delgado-Enciso, I., Ponce-García, G., Martínez-Fierro, M., Ramírez-Valles, E., Treviño, V., Flores-Suárez, A. y Rodríguez-Sánchez, I. (2019). Microbiota of *Telenomus tridentatus* (Platyastroidea: Scelionidae): An unwanted parasitoid. *J Appl Entomol.* 143(8), 834-841. <https://doi.org/10.1111/jen.12656>
- Rankin, C., Ooi, B.G. y Miller, L.K. (1988). Eight base pairs encompassing the transcriptional start point are the major determinant for baculovirus polyhedrin gene expression. *Gene* 70, 39-49. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90102-3)
- Reineke, A., Asgari, S. y Schmidt, O. (2006). Evolutionary origin of *Venturia canescens* virus-like particles. *Arch Insect Biochem Physiol.* 61(3), 123-133. <https://doi.org/10.1002/arch.20113>
- Renault, S., Stasiak, K., Federici, B. y Bigot, Y. (2005). Commensal and mutualistic relationships of reoviruses with their parasitoid wasp hosts. *J Insect Physiol* 51, 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2004.08.002>
- Rice, P., Longden, I. y Bleasby, A. (2000). EMBOSS: the European molecular biology open software suite. *Trends Genet* 16(6), 276-277.
- Richard, F. (s.f). *Aleiodes gastritor*. Finnish Biodiversity Information Facility. Recuperado el 16 de Julio de 2021 de <https://laji.fi/en./taxon/MX.296582/images>
- Rizki, R.M. y Rizki, T.M. (1990). Parasitoid virus-like particles destroy *Drosophila* cellular immunity. *Proc Natl Acad Sci.* 87(21), 8388-8392. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.21.8388>
- Rohrmann, G. F. (2011). *Baculovirus molecular biology* (4 ed., pp. 188). Bethesda (MD): National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information.
- Ronquist, F. (1999). Phylogeny of the Hymenoptera (Insecta): the state of the art. *Zool Scr.* 28, 3-11. <https://doi.org/10.1046/j.1463-6409.1999.00019.x>

- Sánchez-Contreras, M. y Vlisidou, I. (2008). The diversity of insect-bacteria interactions and its applications for disease control. *Biotechnol Genet Eng.* 25, 203-244. <https://doi.org/10.5661/bger-25-203>
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson y A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci.* 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Santos, B.F., Klopstein, S., Whitfield, J.B. y Sharanowski, B.J. (2022). Many evolutionary roads led to virus domestication in ichneumonoid parasitoid wasps. *Curr Opin Insect Sci.* 50, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.12.001>
- Sarmiento M.C. (2012). Avispas Braconidae (Hymenoptera) de Colombia, novedades sobre su sistemática y uso en agricultura. *Bol Mus Entomol. Francisco Luis Gallego* 2(4), 11-20.
- Schuster, D. J. y Wharton, R. A. (1993). Hymenopterous Parasitoids of Leaf-Mining *Liriomyza* Spp. (Diptera: Agromyzidae) on Tomato in Florida. *Environ Entomol.* 22(5). 1188-1191. <https://doi.org/10.1093/ee/22.5.1188>
- Scudder, G. (2017). The importance of Insects. En Adler, P. y R. Footitt (Eds.), *Insect Biodiversity* (2a ed., pp. 9-44). John Wiley & Sons Ltd.
- Sharanowski, B.J., Dowling, A. y Sharkey, M. (2011). Molecular phylogenetics of Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea), based on multiple nuclear genes, and implications for classification. *Syst Entomol.* 36, 549–572. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2011.00580.x>
- Sharanowski, B.J., Ridenbaugh, R.D., Peikarski, P.K., Broad, G.R., Burke, G.R., Deans, A.R., Lemmon, A.R., Moriarty L., E.C., Diehl, G.J., Whitfield, J.B. y Hines, H.M. (2020). Phylogenomics of Ichneumonoidea (Hymenoptera) and implications for evolution mode of parasitism and viral endogenization. *Mol Phylogen Evol.* 156, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.107023>
- Sharkey, M.J. (1993). Family Braconidae. En H. Goulet y J.T. Huber (Eds.), *Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families*. Research Brand Agriculture Canada Publication (pp. 362-395).

- Sharkey, M. J. (2007). Phylogeny and classification of Hymenoptera. *Zootaxa* 1668, 521-548. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.25>
- Shaw, M. R. (1983). On[e] evolution of endoparasitism; the biology of some genera of Rogadinae (Braconidae). *Contrib Am Entomol Inst.* 20, 307-328.
- Shaw, M. R. (2002a). A new species of *Macrostomion* Szépliget (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Papua New Guinea, with notes on the biology of the genus. *Zool Meded.* 76,133-140.
- Shaw, M.R. (2002b). Host ranges of *Aleiodes* species (Hymenoptera: Braconidae), and an evolutionary hypothesis. En G. Melika y C. Thuróczy (Eds.) *Parasitic Wasps: Evolution, Systematics, Biodiversity and Biological Control* (pp 321-327). Agroinform.
- Shaw, M.R. y Huddleston, T. (1991). Classification and biology of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae) (Vol. 7, pp. 1-126). *R Entomol Soc Lon.*
- Shaw, S. (2006). *Aleiodes* wasps of eastern forests: a guide to parasitoids and associated mummified caterpillars. *FHTET*, 1-126.
- Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. M., Gilbert, W., Rogers, J., Schloss, J. A. y Waterson, R. H. (2017). DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 550(7676), 345-353. <https://doi.org/10.1038/nature24286>
- Soares, F.L., Melo, I.S., Dias, A.C. y Andreote, F.D. (2012). Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. *World J Microbiol Biotechnol.* 28(5), 2195-2203. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1025-2>
- Sogin, M.L., Morrison, H.G., Huber, J.A., Mark, D., Huse, S.M., Neal, P.R., Arrieta, J.M. y Herndl, G.J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”. *Proc Natl Acad Sci.* 103, 12115-12120. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605127103>
- Solanki, M.K., Robert, A.S., Singh, R.K., Kumar, S., Pandey, A.K., Srivastava, A.K. y Arora, D.K. (2012). Characterization of mycolytic enzymes of *Bacillus* strains and their bio-protection role against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Curr Microbiol.* 65(3), 330-6. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0160-1>

- Soriano, M., Diaz, P. y Pastor, F.I. (2005). Pectinolytic systems of two anaerobic sporogenous bacterial strains with high activity on pectin. *Curr Microbiol.* 50, 114-118. <https://doi.org/10.1007/s00284-004-4382-8>
- States, D.J., Gish, W. y Altschul, S.F. (1991). Improved sensitivity of nucleic acid database searches using application-specific scoring matrices. *Methods* 3, 66-70. [https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(05\)80165-3](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(05)80165-3)
- Stoltz, D.B. y Vinson, S.B. (1979). Viruses and parasitism in insects. *Adv Virus Res.* 24, 125–171.
- Stoltz, D.B. y Whitfield, J. B. (1992). Viruses and virus-like entities in the parasitic Hymenoptera. *J Hymenopt Res.* 1, 125-139
- Stork, N. E. (1993). How many species are there? *Biodivers Conserv.* 2, 215-232.
- Strand, M.R. (2010). Polydnviruses. En Asgari, S. y K. N. Johnston (Eds.), *Insect Virol* (pp. 171-197). Caister Academic Press.
- Strand, M.R. (2014). Teratocytes and their functions in parasitoids. *Curr Opin Insect Sci.* 6, 68-73. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.09.005>
- Strand, M.R. y Burke, G. (2014). Polydnviruses: Nature’s Genetic Engineers. *Annu Rev Virol.* 1, 333-354. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085451>
- Sulca G.A. (2011). La distribución de Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) a lo largo de una gradiente altitudinal en el Valle de Cosñipata, Cuzco, Perú [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Tanaka, K., Lapointe, R., Barney, W.E., Makkay, A.M., Stoltz, D., Cusson, M. y Webb, B.A. (2007). Shared and species-specific features among ichnovirus genomes. *Virology* 363, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.11.034>
- Tobias, V.I. (1988). A new subfamily of braconids (Hymenoptera, Braconidae) from Australia. *Entomol Obozr.* 67, 644-648.
- Tomalski, M.D., Wu, J.G. y Miller, L.K. (1988). The location, sequence, transcription, and regulation of a baculovirus DNA polymerase gene. *Virology* 167, 591-600. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(88\)90122-5](https://doi.org/10.1016/0042-6822(88)90122-5)

- Toro G., H., Chiappa T., E. y Tobar M., C. (2003). *Biología de insectos*. Ediciones Universitarias de Valparaíso.
- Townes, H. (1969). The genera of Ichneumonidae (part 1). Ephialtinae to Agriotypinae. *Mem Am Entomol Inst.* 11, 1-300.
- van Achterberg, C. (1991). Revision of the genera of the Afrotropical and w. Palaearctical Rogadinae Foerster (Hymenoptera: Braconidae). *Zool Verh.* 273, 1-102.
- van Achterberg, C. (1993). An illustrated key to the subfamilies of the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zool Verh.* 283, 1-189.
- van Achterberg, C. (1995). Generic revision of the subfamily Betylobraconinae (Hymenoptera: Braconidae) and other groups with modified fore tarsus. *Zool Verh* 298, 1-242.
- Vanarsdall, A.L., Okano, K. y Rohrmann, G.F. (2005). Characterization of the replication of a baculovirus mutant lacking the DNA polymerase gene. *Virology* 331(1), 175-180. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.10.024>
- Vanarsdall, A.L., Okano, K. y Rohrmann, G.F. (2006). Characterization of the role of very late expression factor 1 in baculovirus capsid structure and DNA processing. *J Virol.* 80(4), 1724-1733. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.4.1724-1733.2006>
- van Dijk, E.L., Auger, H., Jaszczyszyn, Y. y Thermes, C. (2014). Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet.* 30(9), 418-426. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001>
- van Houte, S., Ros, V.I. y van Oers, M.M. (2013). Walking with insects: Molecular mechanisms behind parasitic manipulation of host behaviour. *Mol Ecol.* 22, 3458-3475. <https://doi.org/10.1111/mec.12307>
- Varaldi, J. Fouillet, P. Ravallec, M., López-Ferber, M., Boulétreau, M. y Fleury, F. (2003). Infectious behavior in parasitoid. *Science* 302(5652), 1930. <https://doi.org/10.1126/science.1088798>
- Varaldi, J. Ravallec, M., Labrosse, C., López-Ferber, M., Boulétreau, M. y Fleury, F. (2006). Artificial transfer and morphological description of virus particles associated

with superparasitism behaviour in a parasitoid wasp. *J Insect Physiol.* 52(11-12), 1202-1212.

- Vilanova, C., Marco, G., Domínguez-Escribá, L., Genovés, S., Sentandreu, V., Bataller, E., Ramón, D. y Porcar, M. (2012). Bacteria from acidic to strongly alkaline insect midguts: potential sources of extreme cellulolytic enzymes. *Biomass Bioenerg.* 45, 288-294. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.06.017>
- Volkoff, A.N., Jouan, V., Urbach, S., Samain, S., Bergoin, M., Wincker, P., Demettre, E., Cousserans, F., Provost, B., Coulibaly, F., Legeai, F., Béliveau, C., Cusson, M., Gyapay, G. y Drezen, J.M. (2010). Analysis of virion structural components reveals vestiges of the ancestral ichnovirus genome. *PLoS Pathog.* 6(5), e1000923. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000923>
- Wang, X., Liu, X., Makalliwa, G.A., Li, J., Wang, H., Hu, Z. y Wang, M. (2017). Per os infectivity factors: a complicated and evolutionarily conserved entry machinery of baculovirus. *Sci China Life Sci.* 60:806-815. <https://doi.org/10.1007/s11427-017-9127-1>
- Wang, Y., Bininda-Emonds, O.R.P., van Oers, M.M., Vlak, J.M. y Jehle, J.A. (2011). The genome of *Oryctes rhinoceros* nudivirus provides novel insight into the evolution of nuclear arthropod-specific large circular double-stranded DNA viruses. *Virus Genes* 42, 444-456. <https://doi.org/10.1007/s11262-011-0589-5>
- Wang, Y., Bininda-Emonds, O.R.P. y Jehle, J.A. (2012). Nudivirus genomics and phylogeny. En M.L. García y V. Romanowsky (Eds.) *Viral Genomes: Molecular structure, diversity, gene expression mechanisms and host-virus interactions* (pp. 33-52). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/27793>
- Wang, Y., Burand, J.P. y Jehle, J.A. (2007a). Nudivirus genomics: Diversity and classification. *Virol Sin.* 22, 128–136. <https://doi.org/10.1007/s12250-007-0014-3>
- Wang, Y., Kleespies, R.G., Huger, A.M. y Jehle, J.A. (2007b). The genome of *Gryllus bimaculatus* nudivirus indicates an ancient diversification of baculovirus-related nonoccluded nudiviruses of insects. *J Virol.* 81(10), 5395-5406. <https://doi.org/10.1128/JVI.02781-06>

- Wang, Y., van Oers, M.M., Crawford, A.M., Vlak, J.M. y Jehle, J.A. (2007c). Genomic analysis of *Oryctes rhinoceros* virus reveals genetic relatedness to *Heliothis zea* virus 1. *Arch Virol.* 152(3), 519-531. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0872-2>
- Wang, Y. y Jehle, J.A. (2009). Nudiviruses and other large, double-stranded circular DNA viruses of invertebrates: new insights on an old topic. *J Invertebr Pathol.* 101(3), 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.03.013>
- Watanabe, H. y Tokuda, G. (2010). Cellulolytic systems in insects. *Ann Rev Entomol.* 55, 609-632. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085319>
- Webb, B.A., Strand, M.R., Dickey, S.E., Beck, M.H., Hilgarth, R.S., Barney, W.E., Kadash, K., Kroemer, J.A., Lindstrom, K.G., Rattanadechakul, W., Shelby, K.S., Thoetkiattikul, H., Turnbull, M.W. y Witherell, R.A. (2006). Polydnavirus genomes reflect their dual roles as mutualists and pathogens. *Virology* 347(1), 160-174. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.11.010>
- Webb, B.A. y Strand, M.R. (2005). The biology and genomics of polydnaviruses. En Gilbert, L., Iatrou, K. y S. Gill (Eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science* (Vol. 6, pp. 323-360). Elsevier Pergamon.
- Werren, J. H. y Windsor, D. M. (2000). *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium. *Proc. Royal Soc. B.* 267, 1277-1285. Wharton, R.A. (1993). Bionomics of the Braconidae. *Annu Rev Entomol.* 38, 121-143. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001005>
- Wharton, R.A. y Hanson, P. (2005). Gall wasps in the family Braconidae (Hymenoptera). En A. Raman, W. Schaefer, y T. Withers. (Eds.) *Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods* (pp 495-505). CRC Press.
- Wharton R.A., Marsh, P. y Sharkey M.J. (1997). *Manual of the New World Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera)*. International Society of Hymenopterists, Special Publ. 1, 439 pp.
- Wharton R.A., Marsh, P. y Sharkey M.J. (1998). *Manual para los géneros de la familia Braconidae (Hymenoptera) del Nuevo Mundo*. ISH, 447 pp.

- Wharton R.A. (1993). Bionomics of the Braconidae. *Annu Rev Entomol.* 38(1), 121-143.
- Whitfield, J.B. (2002). Estimating the age of the polydnavirus/braconid wasp symbiosis. *PNAS* 99, 7508-7513. <https://doi.org/10.1073/pnas.112067199>
- Whitfield, J.B. y Asgari, S. (2003). Virus or not? Phylogenetics of polydnaviruses and their wasp carriers. *J Insect Physiol.* 49(5), 397-405. [https://doi.org/10.1016/s0022-1910\(03\)00057-x](https://doi.org/10.1016/s0022-1910(03)00057-x)
- Whitfield, J.B. y O'Connor, J.M. (2012). Molecular Systematics of Wasp and polydnavirus Genomes and their Coevolution. En Beckage, N. y J.-M. Dreze (Eds.), *Parasitoid Viruses: symbionts and pathogens* (pp. 89-97). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384858-1.00007-2>
- Whitfield J.B. y Wagner, D.L. (1991). Annotated key to the genera of Braconidae (Hymenoptera) attacking leafmining Lepidoptera in the Holarctic region. *J Nat Hist.* 25, 733-754.
- Williams, T., Bergoin, M. y van Oers, M.M. (2017). Diversity of large DNA viruses of invertebrates. *J Invertebr Pathol.* 147, 4-22. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.001>
- Wyder, S., Tschannen, A., Hochuli, A., Gruber, A., Saladin, V., Zumbach, S. y Lanzrein, B. (2002). Characterization of *Chelonus inanitus* polydnavirus segments: Sequences and analysis, excision site and demonstration of clustering. *J Gen Virol.* 83, 247-256.
- Xiao, L., Xie, C.C., Cai, J., Lin, Z.J. y Chen, Y.H. (2009). Identification and characterization of a chitinase-produced bacillus showing significant antifungal activity. *Curr Microbiol.* 58(5), 528-33. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9363-5>
- Xing, K., Deng, R., Wang, J., Feng, J., Huang, M. y Wang, X. (2005). Analysis and prediction of baculovirus promoter sequences. *Virus Res.* 113(1), 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.04.016>
- Yamanaka, A., Hayakawa, Y., Noda, H., Nakashima, N. y Watanabe, H. (1996). Characterization of polydnavirus-encoded mRNA in parasitized armyworm larvae.

Insect Biochem Mol Biol. 26, 529-536. [https://doi.org/10.1016/0965-1748\(95\)00107-7](https://doi.org/10.1016/0965-1748(95)00107-7)

- Yang, S. y Miller, L.K. (1998). Expression and mutational analysis of the baculovirus very late factor 1 (vlf-1) gene. *Virology* 245, 99-109. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9152>
- Yu, D.S.K., van Achterberg, C y Horstmann, K. (2016). Taxapad 2016, Ichneumonoidea. (2015). Database on Flash-drive. Nepean, Ontario, Canada. www.taxapad.com
- Yun, J.-H., Roh, S. W., Whon, T. W., Jung, M.-J., Kim, M.-S., Park, D.-S., Yoon, C., Nam, Y.-D., Kim, Y.-J., Choi, J.-H., Kim, J.-Y., Shin, N.-R., Kim, S.H., Lee, W.-J., y Bae, J.-W. (2014). Insect Gut Bacterial Diversity Determined by Environmental Habitat, Diet, Developmental Stage, and Phylogeny of Host. *Appl Environ Microbiol.* 80(17), 5254-5264. <https://doi.org/10.1128/aem.01226-14>
- Yutin, N., Wolf, Y. I., Raoult, D., Koonin, E. V. (2009). Eukaryotic large nucleocytoplasmic DNA viruses: clusters of orthologous genes and reconstruction of viral genome evolution. *Virol J* 6, 223. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-223>
- Zaldívar-Riverón, A., Mori, M. y Quicke, D.L.J. (2006). Systematics of the cyclostome subfamilies of the braconid parasitic wasps (Hymenoptera: Ichneumonoidea): A molecular simultaneous molecular and morphological Bayesian approach. *Mol Phylogenet Evol.* 38, 130-145. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.08.006>
- Zaldívar-Riverón, A., Shaw, M., Sáez, A., Mori, M., Belokobylskij, S., Shaw, S.R. y Quicke, D.L.J. (2008). Evolution of the parasitic wasp subfamily Rogadinae (Braconidae): phylogeny and evolution of lepidopteran host ranges and mummy characteristics. *BMC Evol Biol.* 8, 329. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-329>
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. y Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Computational Biol.* 7, 203-214.
- Zhao, S., Prenger, K., Smith, L. (2013). Stormbow: A cloud-based tool for reads mapping and expression quantification in large-scale RNA-seq studies. *ISRN Bioinform* 13(1), 1-8. <https://doi.org/10.1155/2013/481545>

- Zucchi, T.D., Almeida, L.G., Dossi, F. y C nsoli, F.L. (2010). Secondary metabolites produced by *Propionicimonas* sp. (ENT-18) induce histological abnormalities in the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *BioControl* 55, 811-819. <https://doi.org/10.1007/s10526-010-9295-9>

ANEXOS

ANEXO 1. Microbioma (nivel taxonómico: familia) encontrado en las especies de rogadoinos.

	No. Voucher															
	38 83	38 84	38 95	38 96	38 98	40 14	40 16	40 18	40 29	41 70	41 71	41 76	42 01	42 03	42 05	42 06
ARCHAEA																
Caldisphaeraceae		x														
Candidatus thalassarchaeaceae	x															
Methanocaldococcaeae						x	x									
Methanococcaceae	x	x			x						x	x	x			
Methanosarcinaceae	x				x						x		x	x		
Nanopusillaceae									x							
Natrialbaceae							x		x		x					
Nitrosopumilaceae	x	x												x		
Sulfolobalaceae	x					x	x									
BACTERIA																
Acetobacteraceae	x						x		x			x				
Acholeplasmataceae					x			x	x			x	x	x	x	
Acidithiobacillaceae									x							
Actinomycetaceae			x	x										x	x	

Boseaceae						x	x							x		
Brachyspiraceae	x				x		x				x	x	x	x	x	
Bradyrhizobiaceae	x	x			x	x	x				x	x		x	x	
Brucellaceae							x								x	
Budviciaceae							x									
Burkholderiaceae	x	x			x	x	x		x		x	x	x	x	x	x
Calotrichaceae	x						x							x	x	
Campylobacteraceae	x	x			x	x	x		x		x	x	x	x	x	
Candidatus Brocadiaceae											x					
Candidatus Nanopelagicaceae												x				
Carnobacteriaceae							x								x	
Caulobacteraceae	x	x			x							x		x	x	
Cellulomonadaceae	x															
Chelatococcaceae														x		
Clostridiaceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Colwelliaceae							x						x	x		
Comamonadaceae	x				x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x
Corynebacteriaceae					x		x							x		
Cryptococcaceae								x	x			x				
Cyclobacteriaceae								x								
Cytophagaceae	x		x	x			x									
Deferribacteraceae													x			
Dermabacteraceae							x									

Dermocarpellaceae								x								
Desulfurellaceae													x			
Desulfobacteraceae	x															
Desulfurococcaceae					x									x		
Desulfovibrionaceae	x	x													x	
Dissulfurispiraceae					x											
Enterobacteriaceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Enterococcaceae	x	x			x		x		x		x	x	x	x		x
Enteroplasmataceae	x															
Entomoplasmataceae						x			x				x		x	
Erwiniaceae	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Erysipelotrichaceae		x				x			x				x		x	
Eubacteriaceae	x						x				x			x	x	
Eubacteriales									x							
Fervidobacteriaceae							x						x			
Flammeovirgaceae							x					x				
Flavobacteriaceae	x	x	x	x	x		x	x	x		x	x	x	x	x	
Francisellaceae		x							x		x	x	x	x		x
Fusobacteriaceae	x	x				x	x		x			x	x	x	x	
Geminocystaceae															x	
Gemmataceae			x	x												
Haemonchidae	x					x						x	x	x	x	
Hahellaceae													x			

Halanaerobiaceae			x	x											x	
Halobacteriovoraceae												x				
Halomonadaceae					x		x		x		x		x	x	x	
Helicobacteraceae	x				x				x			x	x			
Hymenobacteraceae		x					x								x	x
Hyphomicrobiaceae							x					x		x		
Ichthyobacteriaceae							x									
Intrasporangiaceae	x														x	
Kytococcaceae	x															
Kofleriaceae									x							
Ktedonosporobacteraceae									x							
Lachnospiraceae									x			x		x		
Lacipirellulaceae		x														
Lactobacillaceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	
Legionellaceae		x	x	x			x					x			x	x
Leptospiraceae							x						x		x	
Leptotrichiaceae	x	x			x	x	x		x			x	x	x	x	
Listeriaceae	x	x					x				x	x		x		
Maricaulaceae							x									
Marinifilaceae													x			
Methanobacteriaceae	x				x		x		x					x		
Methylobacteriaceae	x		x	x	x		x				x	x	x	x	x	x
Methylophilaceae	x													x		

Microbacteriaceae						x	x							x	x	
Micromonosporaceae												x				
Moraxellaceae	x	x	x	x	x		x	x	x	x		x	x	x		
Morganellaceae	x				x	x		x				x	x	x	x	
Mycobacteriaceae	x						x							x	x	
Mycoplasmataceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x
Mycoplasmoidaceae					x				x					x		
Neisseriaceae	x													x	x	
Nitratiruptoraceae														x	x	
Nitrosomonadaceae							x					x		x	x	
Nitrospiraceae														x		
Nocardiaceae	x						x						x		x	
Oceanospirillaceae									x			x				
Orbaceae														x		
Oscillatoriaceae		x			x											
Oscillospiraceae	x	x	x	x									x			
Oxalabacteraceae	x						x		x			x				
Paenibacillaceae		x	x	x	x		x		x				x		x	
Parvibaculaceae							x							x		
Pasteurellaceae	x	x			x		x				x	x	x	x	x	x
Pectobacteriaceae			x	x	x									x		
Pelagibacteraceae							x						x	x		
Peptococcaceae		x							x							

Peptoniphilaceae		x									x			x	x	
Peptostreptococcaeae	x	x			x	x	x		x		x	x	x	x		x
Peptrotogaceae		x									x					
Phyllobacteriaceae	x				x		x					x		x	x	x
Pirellulaceae		x														
Piscirickettsiaceae							x									
Planococcaceae									x					x	x	
Planctomycetaceae														x		
Pleomorphomonadaceae							x									
Prevoletaceae														x	x	
Prochlorococcaceae	x		x	x			x		x	x				x	x	
Prolixibacteraceae									x							
Propionibacteriaceae	x	x	x	x	x		x					x		x	x	x
Pseudoalteromonadaceae		x	x	x	x		x		x				x			
Pseudomonadaceae	x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x
Pseudonocardiaecae							x					x				
Rhizobiaceae							x							x	x	
Rhodanobacteraceae							x									
Rhodobacteraceae	x						x					x		x		
Rickettsiaceae	x	x	x	x			x		x	x			x	x		
Roseobacteraceae														x		
Schleiferiaceae																
Selenomonadaceae	x															

Shewanellaceae	x					x			x					x		
Silvanigrellaceae							x								x	
Simkaniaceae									x							
Sphaerochaetaceae												x				
Sphingobacteriaceae							x		x			x		x		
Sphingomonadaceae	x					x	x		x			x	x	x	x	
Spirochaetaceae			x	x												
Spirosomaceae										x			x			
Spiroplasmataceae	x	x			x		x	x	x		x	x		x	x	
Spongiibacteraceae							x									
Sporomusaceae									x							
Staphylococcaceae	x	x	x	x	x		x	x	x		x	x	x	x	x	x
Stellaceae							x									
Sterolibacteriaceae							x									
Streptococcaceae	x	x			x	x	x		x		x	x	x	x	x	x
Streptomycetaceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sulfuricellaceae							x									
Tannerellaceae			x	x								x				
Tenuifilaceae								x								
Thermoanaerobacteraceae							x					x	x	x		
Thermococcaceae					x											
Thermodesulfovibrionaceae		x			x									x		
Thermohalobacteraceae											x		x			

Thiotrichaceae						x	x								
Thiovulaceae	x					x			x			x			x
Treponemataceae					x									x	
Trichinellidae								x	x			x		x	x
Turicibacteraceae									x						
Veillonellaceae			x	x	x	x			x			x	x	x	x
Vibrionaceae	x		x	x			x		x				x	x	x
Weeksellaceae	x	x			x		x	x	x	x		x	x	x	x
Xanthobacteraceae							x								
Xanthomonadaceae	x				x		x					x	x	x	x
Yersiniaceae	x		x	x			x	x	x		x	x	x	x	x
Zooglenaceae			x	x		x									
Zymomonadaceae									x				x		
PROTISTA															
Acatanthamoebidae												x			
Acystoteliaceae							x		x				x		
Albuginaceae						x						x	x		
Babesiidae		x							x						
Cavenderiaceae													x		
Cryptosporidiidae	x	x			x			x	x						
Dictyosteliaceae	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	
Eimeriidae	x		x	x	x	x			x		x	x	x	x	x
Entamoebidae	x	x	x	x	x		x	x	x			x	x	x	

Glomerellaceae	x								x					x	
Glomosporiaceae							x								
Hericiaceae									x						
Herpotrichiellaceae						x								x	
Hymenochaetaceae														x	
Hypocreaceae	x						x		x			x	x	x	
Leptosphaeriaceae														x	
Lindgomycetaceae								x							
Malasseziaceae	x						x								
Marasmiaceae									x						
Melampsoraceae	x				x										
Metschnikowiaceae		x						x							
Mollisiaceae			x	x											
Mortierellaceae						x									
Mucoraceae	x														
Mycosphaerellaceae														x	
Nectriaceae	x	x	x	x			x	x				x	x	x	x
Nosematidae									x						
Orbiliaceae									x		x		x		
Perenosporaceae					x		x	x						x	x
Petrogaceae					x										
Phaffomycetaceae	x		x	x					x			x		x	
Phallaceae															

Tubulinosematidae												x					
Ustilaginaceae						x											
ANIMALES																	
Allocreadiidae												x					
Alloionematidae	x	x							x	x				x		x	
Aphelenchoididae									x								
Dicrocoeliidae	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x		x
Dictyocaulidae						x											
Diphyllobothriidae	x	x	x	x	x			x	x					x	x	x	
Dugesiiidae																	
Glossiphoniidae	x					x		x						x	x	x	
Gomontiellaceae						x											
Haemonchidae	x	x				x		x									
Heteroderidae																	x
Hexamitidae						x											x
Hymenolepididae	x	x						x	x	x					x	x	x
Microstomidae						x											
Nereididae						x											
Nostocaceae						x	x	x									
Onchocercidae			x													x	x
Picrophilaceae																	
Rhabditidae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
Schistosomatidae	x	x				x		x	x	x					x	x	x

Strongyloididae	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
Theileriidae							x										
Trichinellidae	x	x			x	x	x						x				
VIRUS																	
Ackermannviridae															x		
Adenoviridae					x												x
Adintoviridae	x																
Coronaviridae													x				
Closteroviridae	x																
Geminiviridae																	x
Hepadnaviridae									x								
Herpesviridae	x		x	x	x	x	x					x	x	x	x		x
Iridoviridae														x			
Marseilleviridae									x			x					
Mimiviridae	x	x						x	x		x	x	x	x			
Myoviridae			x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x			x
Paramyxoviridae			x	x		x	x				x	x	x	x			x
Phycodnaviridae					x								x	x			
Podoviridae								x	x						x		
Polydnaviridae	x	x					x		x					x			
Poxyviridae						x	x								x		
Reoviridae							x		x								
Retroviridae	x		x	x		x	x		x			x	x	x			

Rhabdoviridae														x		
Rountreeviridae	x	x	x	x	x	x	x	x		x		x	x	x		x
Siphoviridae	x		x	x		x		x				x	x			x
Solemoviridae					x							x	x			

ANEXO 2. Coincidencias con genes centrales antiguos usando HMMER y PSI-BLAST.

No. voucher	Taxón	DNA-pol		helicasa		lef-5		lef-8		lef-9		p33	
		HM ME R	PSI	HM ME R	PSI	HM MER	PSI	HM ME R	PSI	HM ME R	PSI	HM ME R	PSI
3883	<i>Canalirogas sp.</i>	7	1	2	-	2	-	2	1	4	-	3	-
3884	<i>Tetrasphaeropyx sp.</i>	2	-	-	-	1	-	5	1	4	-	7	-
3895	<i>Rogas nigrivenosus</i>	1	1	2	-	2	-	1	-	-	-	-	-
3896	<i>Yelicones sp.</i>	1	1	1	-	2	-	3	3	2	-	1	-
3898	<i>Aleiodes cameronii</i>	3	-	1	-	-	-	2	-	1	-	6	-
4014	<i>Cordylorhogas sp.</i>	2	-	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-
4016	<i>Aleiodes sp. (Coronopus group)</i>	4	-	-	-	-	-	1	1	3	1	2	-
4018	<i>Cornutorhogas sp.</i>	10	6	1	-	3	2	9	5	12	2	12	-
4029	<i>Myocron sp.</i>	11	7	3	-	8	3	14	8	14	5	8	-
4163	<i>Mesocentrus sp.</i>	3	-	1	-	2	-	3	2	4	2	3	-
4170	<i>Xebolobus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
4171	<i>Cystomastax sp.</i>	4	1	-	-	1	-	-	-	2	-	1	-
4176	<i>Mesocentrus sp.</i>	3	1	1	-	-	-	4	1	6	-	2	-
4183	<i>Betylobracon waterhousei</i>	15	9	2	-	5	3	18	10	17	6	8	1
4201	<i>Tebennotoma (Eurhyssalus) spasskensis</i>	2	1	-	-	1	-	1	-	4	-	5	-
4203	<i>Facitorius granulosis</i>	1	-	-	-	-	-	1	1	2	-	4	-

4205	<i>Macrostomion sumatranum</i>	5	4	1	-	1	-	6	3	7	2	3	-
4206	<i>Aleiodes (Arcaleiodes) arsenjevi</i>	3	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-