

Informe final* del Proyecto HB033

Caracterizando la diversidad de especies con códigos de barras del ADN en un grupo de avispas parasitoides: un caso de estudio en un área natural protegida mexicana

Responsable: Dr. Alejandro Zaldívar Riverón
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Biología
Departamento de Zoología
Dirección: Av. Universidad #3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, D.F. 04510
Correo electrónico: azaldivar@ibiologia.unam.mx
Teléfono/Fax: Tel: 00 52 (55) 56 22 91 58 Fax: 00 52 (55) 55 50 01 64
Fecha de inicio: Julio 31, 2009
Fecha de término: Noviembre 8, 2011
Principales resultados: Base de datos, informe final, fotografías
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Zaldívar, A. 2012. Caracterizando diversidad de especies con códigos de barras del ADN en un grupo de avispas parasitoides: un caso de estudio en un área natural protegida mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. HB033**, México D. F.

Resumen:

Los himenópteros parasitoides representan aproximadamente el 20% de la totalidad de especies de insectos del planeta, de los cuales la familia Braconidae constituye la segunda familia con mayor riqueza de especies. Las avispas braconíidas parasitan larvas de diversos órdenes de insectos, por lo que juegan un papel fundamental en casi todos los ecosistemas terrestres del planeta. Desafortunadamente, a la fecha un porcentaje considerable de las especies de braconíidos se encuentran sin describir, esto en parte debido a la presencia de un gran número de especies crípticas o morfológicamente muy similares. En el presente proyecto se investigará la diversidad de especies de una de las subfamilias más diversas de Braconidae, la subfamilia Doryctinae, en la Reserva de la Biosfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco, empleando para ello el código de barras del ADN. Se espera que los datos moleculares obtenidos revelen la existencia de varias especies crípticas que no hubieran podido ser descubiertas por medio de la taxonomía tradicional. La Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología de la UNAM no cuenta con una colección de Braconidae, por lo que todos los ejemplares examinados provendrán de salidas al campo. La extracción, amplificación y purificación de los productos de PCR se realizará en el Instituto de Biología, y la secuenciación de los fragmentos de ADN se realizará en el Canadian Centre for DNA Barcoding. El proyecto generará 400 secuencias del código de barras del ADN de por lo menos 30 morfoespecies de Doryctinae, y se espera que el número de especies crípticas encontradas por medio del uso del código de barras ascienda al doble el número de especies presentes en la región para este grupo.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

Proyecto para la generación de códigos de barras del ADN de especies mexicanas

REPORTE FINAL

**CARACTERIZANDO DIVERSIDAD DE ESPECIES CON CÓDIGOS DE BARRAS
DEL ADN EN UN GRUPO DE AVISPAS PARASITOIDES: UN CASO DE
ESTUDIO EN UN ÁREA NATURAL PROTEGIDA MEXICANA
(Proyecto CONABIO HB033)**

Institución: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México

Departamento: Departamento de Zoología

Laboratorio: Colección Nacional de Insectos

Dirección: Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Copilco, Coyoacán, C. P. 54080,
México D. F., México.

Datos del responsable técnico:

Dr. Alejandro Zaldívar Riverón.

Investigador titular A de tiempo completo.

Teléfono oficina: 560-22-91-33. Fax: 55-50-1760. Teléfono casa: 55540760.

Correo electrónico: azaldivar@ibiologia.unam.mx

Siglas del proyecto: ASDOR

INTRODUCCIÓN

Los himenópteros parasitoides representan aproximadamente el 20% de la totalidad de especies de insectos del planeta, de los cuales la familia Braconidae constituye la segunda familia con mayor riqueza de especies. Las avispas braconíidas parasitan larvas de diversos órdenes de insectos, por lo que juegan un papel fundamental en casi todos los ecosistemas terrestres del planeta. En el presente proyecto se investigó la diversidad de especies de una de las subfamilias más diversas de Braconidae, la subfamilia Doryctinae, en la Reserva de la Biosfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco, empleando para ello el código de barras del ADN. *El presente proyecto se encuentra dado de alta en el sistema BOLD exclusivamente para el proyecto que se desarrolla con CONABIO.*

OBJETIVOS

Generales

- Investigar la diversidad de géneros y especies pertenecientes a la subfamilia Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae) en la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco, con base en el uso del código de barras del ADN.

Particulares

- Incorporación de la información generada durante el proyecto (secuencias de ADN mitocondrial del gen citocromo oxidasa I y 28S, fotografías digitales para las especies discriminadas con el código de barras) en la base de datos del sistema BOLD.
- Descripción de nuevos taxones pertenecientes al grupo de estudio con base en un criterio taxonómico integral.
- Creación de una base de tejidos y ADN genómico de himenópteros en la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología de la UNAM.

MÉTODOS

Ejemplares recolectados

Se realizaron **siete** salidas a la reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, en el estado de Jalisco, cada una con una duración de seis a ocho días. **Este número excede por dos al número de salidas que se tenían comprometidas para el proyecto, y se realizaron con el fin de recolectar el mayor número posible de ejemplares (ver resultados).** Cuatro de las salidas se efectuaron en el verano del 2009 y 2010, ya que es en época de lluvia cuando es posible recolectar más avispas braconíidas. Los ejemplares fueron recolectados empleando cuatro tipos diferentes de trampas: redes de golpeo, trampas malaise, trampas amarillas, y trampas de luz.

Identificación de géneros

Todas las bolsas con las muestras traídas del campo se refrigeraron a -20°C con la finalidad de que no se degradara el ADN. Se utilizó un microscopio estereoscópico para separar e identificar el material recolectado. El material separado, identificado y etiquetado se colocó en tubos con etanol absoluto y se mantuvo a -20°C hasta su posterior análisis molecular. La identificación taxonómica a nivel de género se realizó con la ayuda de las claves taxonómicas de Marsh (1997, 2002).

Análisis de datos

La extracción y amplificación de las muestras se realizó tanto en el Instituto de Biología de la UNAM como en el Biodiversity Institute of Ontario, University of Guelph, en Ontario, Canada. Todas las secuencias fueron obtenidas en la institución antes mencionada. En este trabajo se secuenciaron dos marcadores genéticos, el fragmento correspondiente al código de barras (658 pares de bases del gen mitocondrial citocromo oxidasa I), y un fragmento de aproximadamente 600 pares de bases correspondiente a los segundo y tercer dominios del gen nuclear ribosomal 28S.

Todas las secuencias generadas tanto del código de barras como del gen nuclear 28S, así como la información de todos los especímenes están disponibles en el archivo del proyecto ASDOR en la sección de proyectos publicados del sistema de datos del código de barras de la vida (www.barcodinglife.com). Todas las secuencias generadas en este trabajo han sido también depositadas en la página web del GenBank.

Análisis para delimitar especies

La mayoría de las secuencias correspondientes al código de barras no presentaron indels por lo que fueron alineadas visualmente con el programa BioEdit (Hall, 1999). Las divergencias entre secuencias fueron calculadas usando el modelo de parámetro de distancia Kimura-2-parámetros. Se realizó un análisis de distancias con todas las secuencias generadas con el fin de observar de manera preliminar los agrupamientos de secuencias y un número aproximado de especies detectadas con el código de barras. No obstante, no se tomó en cuenta este fenograma ya que este método no ofrece una base objetiva para delimitar el número de especies en estudios de este tipo (e.g. Monaghan et al., 2009).

El número de especies obtenidas se evaluó utilizando el método de GMYC (Pons et al., 2006; Fontaneto et al., 2007). Este método requiere una topología totalmente resuelta con longitudes de ramas. Por lo tanto, se realizó un análisis Bayesiano con la versión de BEAST 1.5.3 (Drummond y Rambaut 2007) con el fin de reconstruir una topología totalmente resuelta que tuviera los valores de las longitudes de ramas. Para el análisis con BEAST primero se eliminaron todas las secuencias duplicadas con el programa Colapse versión 1.2 (Posada, 2004). El análisis se llevó a cabo empleando un reloj relajado lognormal y se empleó el modelo de evolución GTR + I + Γ .

El análisis Bayesiano con BEAST incluyó 10 millones de generaciones, muestreando árboles cada 1,000 generaciones. El 'burn-in' ocurrió después de 700,000 generaciones de acuerdo con el programa Tracer v.1.4 (Rambaut y Drummond, 2008), aunque se siguió un criterio conservador y se eliminaron los árboles muestreados durante los primeros 10 millones de generaciones. Los árboles que quedaron incluidos en la muestra se utilizaron para construir un árbol usando el programa TreeAnnotator v.1.5.3 (Rambaut y Drummond, 2008). La delimitación de las especies se realizó usando la aproximación GMYC contenida en el paquete INTERVALOS del programa R (de <http://r-forge.r-project.org/projects/divisiones/>).

RESULTADOS

Especímenes recolectados

Se realizaron dos salidas adicionales con el fin de alcanzar el número de ejemplares comprometidos en el convenio (1,000 ejemplares). No obstante estas salidas, no se logró el anterior objetivo, aunque el número de especies discriminadas con códigos de barras (ver

abajo) resultó muy superior al número calculado antes de iniciar el estudio. Este trabajo por lo tanto constituirá una contribución muy importante para evaluar la diversidad real existente en varios grupos de invertebrados megadiversos.

De las siete salidas realizadas se recolectaron 864 ejemplares, 861 de los cuales pertenecen a la familia Doryctinae. Los tres ejemplares restantes pertenecen a otras subfamilias morfológicamente muy similares (Euphorinae, Opiinae, y Lysiterminae), por lo que en un inicio fueron confundidas como doryctinos y secuenciadas. Estos tres ejemplares no fueron incluidos en los análisis de resultados subsecuentes, excepto el ejemplar de Opiinae, que fue usado como grupo externo para enraizar el árbol reconstruido.

Especies discriminadas

De los **861** doryctinos recolectados se pudieron generar **791** secuencias del código de barras pertenecientes a **27** géneros distintos (ver lista de géneros en tabla 1). Veintidós de los individuos secuenciados no pudieron ser asignados a ningún género conocido y probablemente éstos representen taxones que no han sido formalmente descritos. En la figura 1 se incluye el árbol obtenido con el método bayesiano incluyendo a las 791 secuencias de doryctinos generadas en el proyecto y usando la secuencia de Opiinae como grupo externo para enraizar el árbol generado. En este árbol cada especie está representada por clados con sus ramas terminales en rojo para el caso de aquellas con más de un ejemplar, o con especies con ramas terminales en negro en el caso de que éstas estuvieran representadas por tan solo un individuo. También se presenta para su comparación en la figura 2 un fenograma generado por la página del sistema BOLS usando el método de distancias de Neighbor-Joining. Un total de 528 de los individuos secuenciados fueron asignados al género *Heterospilus*, mientras que 333 fueron asignados a otros géneros.

Un total de **253** especies fueron discriminadas usando la aproximación GMYC (intervalo de confianza 240-357). De estas especies, 150 estuvieron representadas por dos o más ejemplares, mientras que 103 estuvieron representadas por un solo ejemplar. En la figura 1 se muestra el árbol obtenido con el método Bayesiano así como las especies discriminadas con el método de GMYC. *Cabe señalar que esta es una primera aproximación para determinar el número total de especies encontradas en la región de estudio. Análisis posteriores incluyendo otro marcador (28S) y su comparación con la morfología de los*

ejemplares permitirán esclarecer con certeza el número total de especies presentes. Por lo tanto, en este reporte solo se menciona el número preliminar de especies discriminadas con el método GMYC (tabla 1), pero no se incluyen estos límites entre especies en la página del sistema BOLD hasta su confirmación con información molecular adicional.

*Todos los códigos de barras obtenidos pueden ser empleados como referente para la identificación de los géneros incluidos, aunque la mayoría de las especies discriminadas con la información genética no se encuentran formalmente descritas. Únicamente seis especies descritas fueron identificadas, *Neoheterospilus chamelae*, *Iare mexicanus*, *I. belokobylskiji*, *I. chaguevarai*, *Hecabolus mexicanus*, y *Whitfieldiellus variegatus*. Cabe señalar que las descripciones de las primeras cuatro especies fueron publicadas por el responsable de este proyecto durante el desarrollo del presente estudio. Las secuencias de estas seis especies pueden ser usadas como referencia para su identificación.*

Como información adicional, se generaron además secuencias del gen 28S para 316 ejemplares con el fin de confirmar el número de especies discriminadas con el código de barras. *Se espera secuenciar la totalidad de ejemplares de este marcador genético (la entrega de las secuencias de este gen no forman parte del convenio) durante el próximo año para poder confirmar el número de especies encontradas en la región.*

Fotografías de las especies encontradas

Se obtuvieron 207 fotografías digitales correspondientes a 196 de las 253 especies discriminadas con el código de barras. No se pudieron tomar fotografías digitales para ejemplares de todas las especies debido a que hasta antes del análisis se desconocía que individuos correspondían a cada especie. Además, el análisis se retrasó debido al prolongado tiempo de espera para la publicación de las secuencias por parte del sistema BOLD (de uno a tres meses). Las últimas secuencias del proyecto fueron publicadas el 29 de octubre del presente año. *No obstante esto, se tomaron fotografías para especies de 24 de los géneros incluidos. No se tomaron fotografías para todas las especies de los géneros *Heterospilus*, *Allorhogas* y *Ecphylus*. Estos tres géneros resultaron por mucho los más diversos dentro de la subfamilia. El número de especies fotografiadas es sin embargo considerablemente superior al número de especies mencionadas en el proyecto original.* Todas las fotografías digitales obtenidas se ingresaron al proyecto del presente autor en la página del sistema BOLD

(www.boldsystems.org; login: azaldivar-riveron password: muneca; siglas del proyecto: ASDOR).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados apoyan previos estudios con códigos de barras en distintas regiones geográficas del planeta las cuales han revelado la existencia de una extraordinaria pero considerablemente ignorada diversidad de pequeños invertebrados, no sólo en los trópicos (p. ej. Smith et al., 2008; Monaghan et al., 2009) sino también en zonas templadas (e.g. Sheffield et al., 2009; Smith et al., 2009). Con respecto a nuestro grupo de estudio, las avispa parasitoides de la subfamilia Doryctinae son particularmente diversas en el Neotrópico, aunque han sido virtualmente ignoradas por los taxónomos en el territorio mexicano ya que únicamente 33 especies descritas han sido reportadas para el país, cinco de las cuales pertenecen al megadiverso género *Heterospilus* (Yu et al., 2005). El presente estudio por lo tanto servirá como base para conocer la diversidad de este grupo de insectos en los bosques tropicales caducifolios de México, los cuales han sido tradicionalmente considerados tener una menor biodiversidad que otros ecosistemas tropicales.

Inferencias taxonómicas

Las secuencias del código de barras generadas en este estudio detectaron que los especímenes de dos de los géneros identificados, *Ptesimogaster* y *Ptesimogastroides*, comparten el mismo haplotipo, y por lo tanto estos podrían ser considerados como conespecíficos una vez que se hayan examinado marcadores nucleares adicionales. En cualquier caso, este resultado revela que, ya sea que estos dos taxones sean considerados como conespecíficos o no, estos se encuentran muy cercanamente relacionados, y por lo tanto se propone que *Ptesimogastroides* sea sinonimizado con *Ptesimogastroides*. Las especies descritas de *Ptesimogastroides* tan solo se distinguen de las especies de *Ptesimogaster* por la ausencia de un tubérculo anterobasal en la coxa posterior. Este resultado apoya otros estudios (Zaldivar-Riverón et al., 2007, 2008) que han sugerido que la anterior característica, tradicionalmente considerada como un carácter útil para separar grupos supraespecíficos en Doryctinae, es altamente variable y por lo tanto no debe ser considerada como la única característica para separar grupos.

El árbol obtenido con el método bayesiano y su posterior análisis con el método de GMYC (Figura 1) recuperó a la mayoría de los ejemplares asignados al género *Heterospilus* en un solo clado, pero también incluyendo a los especímenes asignados a *Neoheterospilus* y *Heterospathius*. A pesar de que debe ser empleado con cautela cuando es el único marcador usado para inferir relaciones filogenéticas debido a su alta tasa de sustitución, se ha observado que el gen COI posee información filogenética útil en distintos niveles taxonómicos. Por lo tanto, no es raro los estudios con códigos de barras recuperen como monofiléticos grupos de géneros, tribus, y hasta familias (e.g. Sheffield et al., 2009). Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren la condición parafilética del género *Heterospilus*, lo cual es congruente con las características morfológicas por los dos géneros involucrados. Las especies de *Neoheterospilus* se distinguen de las de *Heterospilus* por tener un ovipositor altamente modificado (Belokobylskij 2006; Martínez y Zaldívar-Riverón, 2010), mientras que *Heterospathius* únicamente se distingue de *Heterospilus* por tener el primer tergo metasomal peciolado. Esta conclusión, sin embargo, necesita ser confirmada con información molecular adicional.

LITERATURA CITADA

- Belokobylskij SA. 2006. *Neoheterospilus* gen. n., a new genus of the tribe Heterospilini (Hymenoptera: Braconidae: Doryctinae) with highly modified ovipositor and a worldwide distribution. *Insect Syst Evol* 37:149–178.
- Drummond AJ, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* 7:214.
- Fontaneto D, Herniou EA, Boschetti C, Caprioli M, Melone G, Ricci C, Barraclough TG. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biol* 5:914–921.
- Marsh PM. 1997. Doryctinae. In: Wharton RA, Marsh PM, Sharkey MJ, editors. *Manual of the New World Genera of the family Braconidae (Hymenoptera)*. International Society of Hymenopterists, Special publication. Vol. 1. p 207–233.
- Marsh PM. 2002. The Doryctinae of Costa Rica (excluding the genus *Heterospilus*). *Mem Am Entomol Inst* 70:1–319.
- Martínez JJ, Zaldívar-Riverón A. 2010. A new species of *Neoheterospilus* (Hymenoptera: Braconidae) from Chamela, Jalisco, Mexico. *J Hymenoptera Res*.

- Monaghan MT, Wild R, Elliot M, Fujisawa T, Balke M, Inward DJG, et al. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Syst Biol* 58:298–311.
- Pons J, Barraclough TG, Gómez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, et al. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Syst Biol* 55: 595–609.
- Posada D. 2004. Collapse: Describing haplotypes from sequence alignments. Vigo, Spain: University of Vigo. [Online] Available at: <http://darwin.uvigo.es/software/collapse.html>
- Rambaut A, Drummond AJ. 2007. Tracer v1.4. [Online] Available at: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Sheffield CS, Hebert PDN, Kevan PG, Packer L. 2009. DNA barcoding a regional bee (Hymenoptera: Apoidea) fauna and its potential for ecological studies. *Mol Ecol Res* 9:196–207.
- Smith MA, Rodríguez JJ, Whitfield JB, Deans AR, Janzen DH, Hallwachs W, Hebert PDN. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:12359–12364.
- Yu DS, van Achterberg C, Horstman K. 2005. World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, Biology, Morphology and Distribution. CD/DVD. Vancouver, Canada: Taxapad. [Online] Available at: <http://www.taxapad.com>
- Zaldívar-Riverón A, Belokobylskij SA, León-Regagnon V, Martínez JJ, Briceño R, Quicke DLJ. 2007. A single origin of gall association in a group of parasitic wasps with disparate morphologies. *Mol Phylogenet Evol* 44:981–992.
- Zaldívar-Riverón A, Belokobylskij SA, León-Regagnon V, Briceño GR, Quicke DLJ. 2008. Molecular phylogeny and historical biogeography of the cosmopolitan parasitic wasp subfamily Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae). *Invertebr Syst* 22: 345–363.
- Zaldívar- Riverón, A.**, Martínez, J. J., Ceccarelli, S. F., De Jesús-Bonilla, V. S., Rodríguez-Pérez, A. C., Reséndiz-Flores, A., Smith, M. A. 2010. DNA barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve. *Mitochondrial DNA* 21(S1): 18–23.

LISTA DE RESULTADOS OBTENIDOS:

Académicos:

- Publicación de los siguientes tres artículos científicos a revistas indexadas (se anexa copia de los artículos):
 1. **Zaldívar- Riverón, A.**, Martínez, J. J., Ceccarelli, S. F., De Jesús-Bonilla, V. S., Rodríguez-Pérez, A. C., Reséndiz-Flores, A., Smith, M. A. 2010 DNA barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve. *Mitochondrial DNA*. 21 (S1): 18-23.
 2. Martínez, J. J., Ceccarelli, F. S., **Zaldívar- Riverón, A.** 2010. The genus *Iare* (Hymenoptera: Braconidae: Doryctinae) in Mexico, with the description of two new species. *Zootaxa*. 2685: 30-38.
 3. Martínez, J. J., **Zaldívar- Riverón, A.** 2010. A new species of *Neoheterospilus* (Braconidae: Doryctinae) from Chamela, Jalisco, Mexico. *Journal of Hymenoptera Research* 19: 217-222.
- Creación de una base de tejidos y ADN genómico de himenópteros en la Colección Nacional de Insectos (CNIN) del Instituto de Biología, UNAM.
- Incremento de la colección de himenópteros en la CNIN del Instituto de Biología, UNAM.

Del proyecto:

- Generación de secuencias del fragmento de ADN del código de barras para 791 ejemplares correspondientes a 27 géneros reconocidos de la subfamilia Doryctinae (Hymenoptera: Braconidae). El número total de especies tentativamente reconocidas por el código de barras es de 253.
- Todos los códigos de barras obtenidos pueden ser empleados como referente para la identificación de los géneros incluidos.
- Generación de 316 secuencias de un fragmento (apro. 650 pares de bases) del gen nuclear ribosomal 28S para los ejemplares recolectados.

- Generación de 207 fotografías digitales correspondientes a 196 de las especies discriminadas de manera preliminar por el código de barras.

Tabla 1. Lista de géneros identificados de la subfamilia Doryctinae con base en morfología externa, así como el número de ejemplares recolectados por género y su número de especies discriminadas usando el código de barras.

Géneros	Ejemplares recolectados/secuenciados	Especies discriminadas con códigos de barras
1. <i>Allorhogas</i>	54/48	22
2. <i>Caenophanes</i>	1/1	1
3. <i>Callihormius</i>	13/13	7
4. <i>Coiba</i>	7/7	3
5. <i>Curtisella</i>	3/3	1
6. <i>Ecphylus</i>	40/37	17
7. <i>Glyptocolastes</i>	11/11	6
8. <i>Hecabolus</i>	2/2	1
9. <i>Heterospathius</i>	7/7	1 ¹
10. <i>Heterospilus</i>	581/528	151
11. <i>Iare</i>	20/19	5
12. <i>Janzenia</i>	2/2	1
13. <i>Leluthia</i>	1/1	1
14. <i>Masonius</i>	3/2	1
15. <i>Neoheterospilus</i>	42/42	4
16. <i>Nervellius</i>	1/1	1
17. <i>Notiospathius</i>	19/13	5
18. <i>Odontobracon</i>	3/3	2
19. <i>Panama</i>	2/2	2
20. <i>Psenobolus</i>	1/1	1
21. <i>Ptesimogaster</i>	1/1	1
22. <i>Ptesimogastroides</i>	1/1	— ²
23. <i>Rhaconotus</i>	8/8	3
24. <i>Spathius</i>	13/12	1
25. <i>Stenocorse</i>	1/1	1

26. <i>Vanderentiellus</i>	1/1	1 ³
27. <i>Whitfieldiellus</i>	1/1	1
28. Ejemplares no asignados a género reconocidos	22/20	12 ⁴
TOTAL	861	253

¹ Dentro del clado con la única especie asignada a *Heterospathius* se obtuvo un ejemplar originalmente asignado a *Heterospilus*.

² El único ejemplar asignado como *Ptesimogastroides* se encontró en un clado como la misma especie del único ejemplar asignado a *Ptesimogaster*. Por lo tanto, en un artículo publicado recientemente por el presente autor se sinonimizó a *Ptesimogastroides* con *Ptesimogaster* (Zaldívar-Riverón et al., 2010).

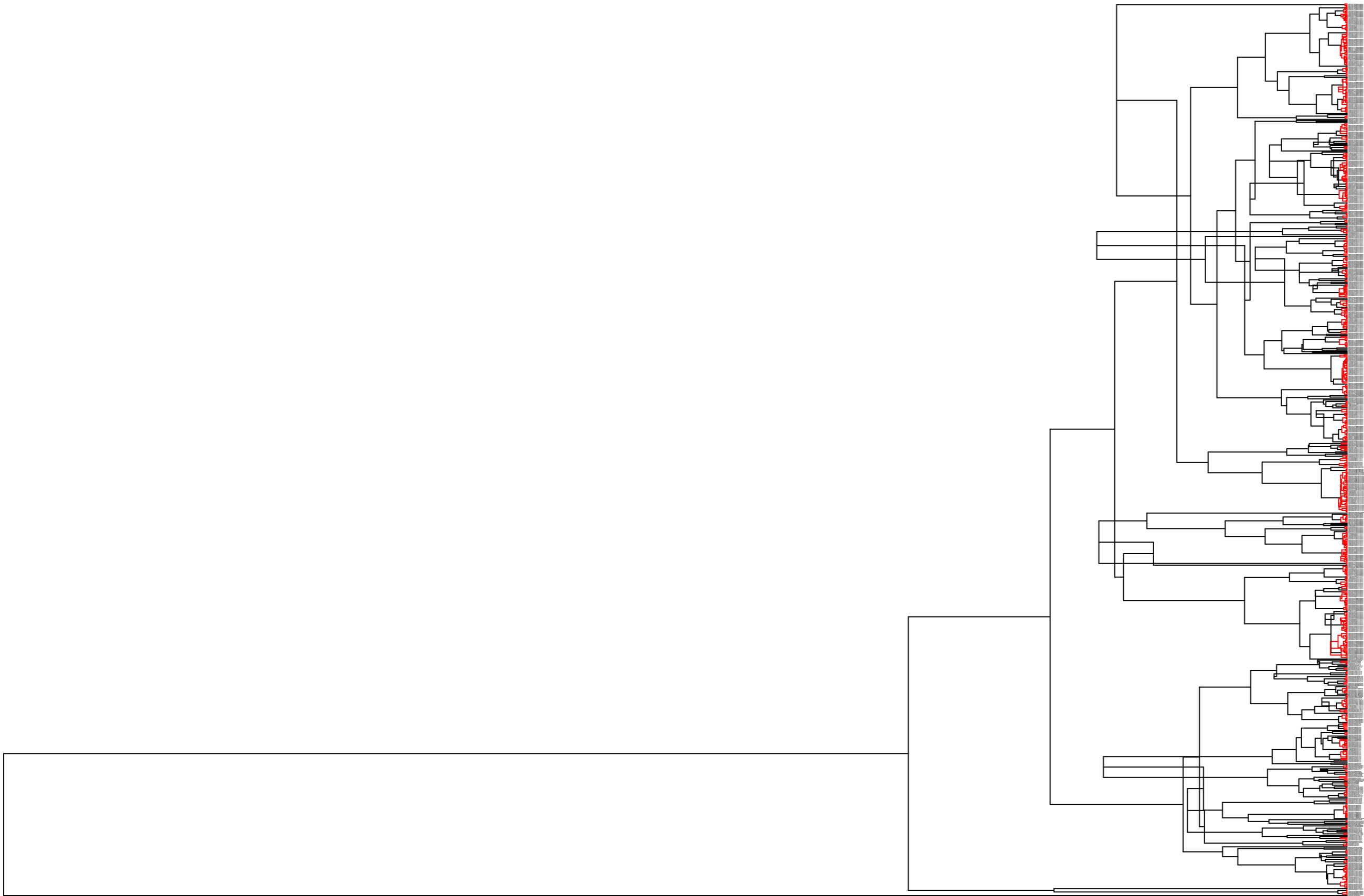
³ El único ejemplar asignado a *Vanderentiellus* se encontró en un clado junto con un ejemplar asignado a *Curtisella*, con ambos ejemplares asignándose a una misma especie.

⁴ En uno de los clados representados por una especie asignada a un género no identificado de Doryctinae se encontró también a un ejemplar asignado a *Notiospathius*.

PIE DE FIGURAS

Figura 1. Filograma obtenido con el método bayesiano con a las 791 secuencias de doryctinos y usando la secuencia de Opiinae como grupo externo. Cada especie está representada por clados con sus ramas terminales en rojo para el caso de aquellas con más de un ejemplar, o con especies con ramas terminales en negro en el caso de que éstas estuvieran representadas por tan solo un individuo.

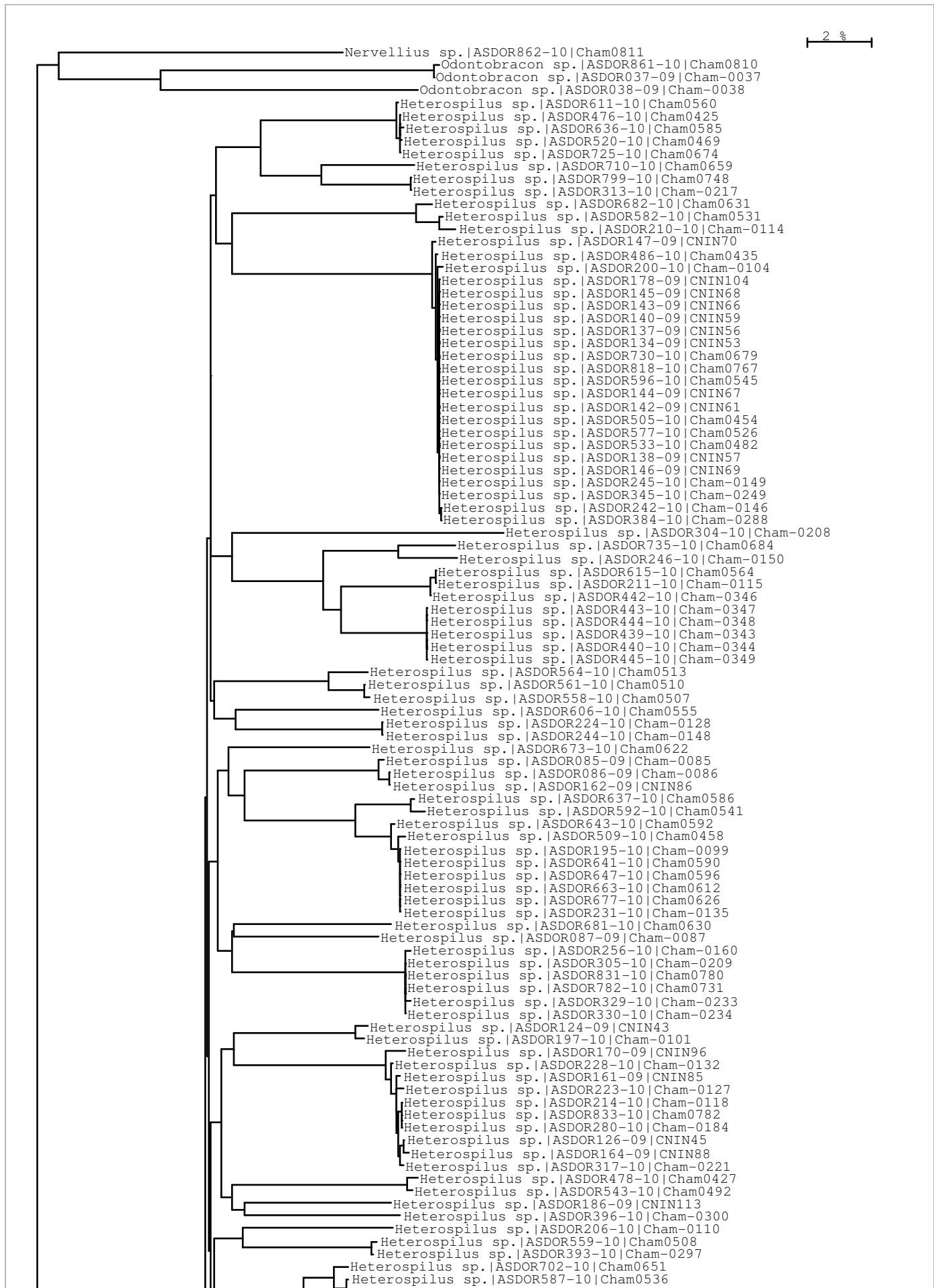
Figura 2. Fenograma generado por la página del sistema BOLS usando el método de distancias de Neighbor-Joining.



BOLD TaxonID Tree

Project : Doryctinae (Braconidae) of Mexico [ASDOR]
Date : 28-February-2011
Data Type : Nucleotide
Distance Model : Kimura 2 Parameter
Marker : COI-5P
Codon Positions : 1st, 2nd, 3rd
Labels : SampleID, ProcessID,
Filters : Length > 100
Colorization : [blue]=Stop Codons [red]=Contamination or misidentification

Sequence Count : 788
Species count : 31
Genus count : 27
Family count : 1
Unidentified : 20



Heterospilus sp. | ASDOR395-10 | Cham-0237
Heterospilus sp. | ASDOR702-10 | Cham0651
Heterospilus sp. | ASDOR587-10 | Cham0536
Heterospilus sp. | ASDOR743-10 | Cham0692
Heterospilus sp. | ASDOR724-10 | Cham0673
Heterospilus sp. | ASDOR094-09 | Cham-0094
Heterospilus sp. | ASDOR494-10 | Cham0443
Heterospilus sp. | ASDOR179-09 | CNIN105
Heterospilus sp. | ASDOR127-09 | CNIN46
Heterospilus sp. | ASDOR139-09 | CNIN58
Heterospilus sp. | ASDOR196-10 | Cham-0100
Heterospilus sp. | ASDOR227-10 | Cham-0131
Heterospilus sp. | ASDOR131-09 | CNIN50
Heterospilus sp. | ASDOR132-09 | CNIN51
Heterospilus sp. | ASDOR181-09 | CNIN107
Heterospilus sp. | ASDOR184-09 | CNIN111
Heterospilus sp. | ASDOR289-10 | Cham-0193
Heterospilus sp. | ASDOR584-10 | Cham0533
Heterospilus sp. | ASDOR704-10 | Cham0653
Heterospilus sp. | ASDOR712-10 | Cham0661
Heterospilus sp. | ASDOR709-10 | Cham0658
Heterospilus sp. | ASDOR650-10 | Cham0599
Heterospilus sp. | ASDOR705-10 | Cham0654
Heterospilus sp. | ASDOR265-10 | Cham-0169
Heterospilus sp. | ASDOR402-10 | Cham-0306
Heterospilus sp. | ASDOR180-09 | CNIN106
Heterospilus sp. | ASDOR241-10 | Cham-0145
Heterospilus sp. | ASDOR262-10 | Cham-0166
Heterospilus sp. | ASDOR654-10 | Cham0603
Heterospilus sp. | ASDOR791-10 | Cham0740
Heterospilus sp. | ASDOR213-10 | Cham-0117
Heterospilus sp. | ASDOR797-10 | Cham0746
Heterospilus sp. | ASDOR314-10 | Cham-0218
Heterospilus sp. | ASDOR412-10 | Cham-0316
Heterospilus sp. | ASDOR421-10 | Cham-0325
Heterospilus sp. | ASDOR078-09 | Cham-0078
Heterospilus sp. | ASDOR129-09 | CNIN48
Heterospilus sp. | ASDOR192-10 | Cham-0096
Heterospilus sp. | ASDOR420-10 | Cham-0324
Heterospilus sp. | ASDOR182-09 | CNIN108
Heterospilus sp. | ASDOR308-10 | Cham-0212
Heterospilus sp. | ASDOR651-10 | Cham0600
Heterospilus sp. | ASDOR208-10 | Cham-0112
Heterospilus sp. | ASDOR292-10 | Cham-0196
Heterospilus sp. | ASDOR306-10 | Cham-0210
Heterospilus sp. | ASDOR319-10 | Cham-0223
Heterospilus sp. | ASDOR205-10 | Cham-0109
Heterospilus sp. | ASDOR258-10 | Cham-0162
Heterospilus sp. | ASDOR331-10 | Cham-0235
Heterospilus sp. | ASDOR812-10 | Cham0761
Heterospilus sp. | ASDOR401-10 | Cham-0305
Heterospilus sp. | ASDOR272-10 | Cham-0176
Heterospilus sp. | ASDOR659-10 | Cham0608
Heterospilus sp. | ASDOR493-10 | Cham0442
Heterospilus sp. | ASDOR158-09 | CNIN82
Heterospilus sp. | ASDOR339-10 | Cham-0243
Heterospilus sp. | ASDOR656-10 | Cham0605
Heterospilus sp. | ASDOR088-09 | Cham-0088
Heterospilus sp. | ASDOR155-09 | CNIN79
Heterospilus sp. | ASDOR661-10 | Cham0610
Heterospilus sp. | ASDOR125-09 | CNIN44
Heterospilus sp. | ASDOR411-10 | Cham-0315
Heterospilus sp. | ASDOR640-10 | Cham0589
Heterospilus sp. | ASDOR669-10 | Cham0618
Heterospilus sp. | ASDOR574-10 | Cham0523
Heterospilus sp. | ASDOR751-10 | Cham0700
Heterospilus sp. | ASDOR583-10 | Cham0532
Heterospilus sp. | ASDOR670-10 | Cham0619
Heterospilus sp. | ASDOR695-10 | Cham0644
Heterospilus sp. | ASDOR490-10 | Cham0439
Heterospilus sp. | ASDOR664-10 | Cham0613
Heterospilus sp. | ASDOR645-10 | Cham0594
Heterospilus sp. | ASDOR835-10 | Cham0784
Heterospilus sp. | ASDOR717-10 | Cham0666
Heterospilus sp. | ASDOR119-09 | CNIN38
Heterospilus sp. | ASDOR120-09 | CNIN39
Heterospilus sp. | ASDOR168-09 | CNIN93
Heterospilus sp. | ASDOR585-10 | Cham0534
Heterospilus sp. | ASDOR172-09 | CNIN98
Heterospilus sp. | ASDOR166-09 | CNIN91
Heterospilus sp. | ASDOR526-10 | Cham0475
Heterospilus sp. | ASDOR667-10 | Cham0616
Heterospilus sp. | ASDOR527-10 | Cham0476
Heterospilus sp. | ASDOR662-10 | Cham0611
Heterospilus sp. | ASDOR696-10 | Cham0645
Heterospilus sp. | ASDOR692-10 | Cham0641
Heterospilus sp. | ASDOR477-10 | Cham0426
Heterospilus sp. | ASDOR863-10 | Cham0812
Heterospilus sp. | ASDOR665-10 | Cham0614
Heterospilus sp. | ASDOR687-10 | Cham0636
Heterospilus sp. | ASDOR523-10 | Cham0472
Heterospilus sp. | ASDOR173-09 | CNIN99
Heterospilus sp. | ASDOR185-09 | CNIN112
Heterospilus sp. | ASDOR504-10 | Cham0453
Heterospilus sp. | ASDOR579-10 | Cham0528
Heterospilus sp. | ASDOR309-10 | Cham-0213
Heterospilus sp. | ASDOR156-09 | CNIN80
Heterospilus sp. | ASDOR591-10 | Cham0540
Heterospilus sp. | ASDOR578-10 | Cham0527
Heterospilus sp. | ASDOR264-10 | Cham-0168
Heterospilus sp. | ASDOR683-10 | Cham0632
Heterospilus sp. | ASDOR188-09 | CNIN115

Heterospilus sp. |ASDOR264-10|Cham-0168
Heterospilus sp. |ASDOR683-10|Cham0632
Heterospilus sp. |ASDOR188-09|CNIN115
Heterospilus sp. |ASDOR397-10|Cham-0301
Heterospilus sp. |ASDOR830-10|Cham0779
Heterospilus sp. |ASDOR400-10|Cham-0304
Heterospilus sp. |ASDOR089-09|Cham-0089
Heterospilus sp. |ASDOR212-10|Cham-0116
Heterospilus sp. |ASDOR225-10|Cham-0129
Heterospilus sp. |ASDOR524-10|Cham0473
Heterospilus sp. |ASDOR521-10|Cham0470
Heterospilus sp. |ASDOR534-10|Cham0483
Heterospilus sp. |ASDOR700-10|Cham0649
Heterospilus sp. |ASDOR150-09|CNIN73
Heterospilus sp. |ASDOR580-10|Cham0529
Heterospilus sp. |ASDOR679-10|Cham0628
Heterospilus sp. |ASDOR282-10|Cham-0186
Heterospilus sp. |ASDOR152-09|CNIN76
Heterospilus sp. |ASDOR422-10|Cham-0326
Heterospilus sp. |ASDOR752-10|Cham0701
Heterospilus sp. |ASDOR436-10|Cham-0340
Heterospilus sp. |ASDOR568-10|Cham0517
Heterospilus sp. |ASDOR207-10|Cham-0111
Heterospilus sp. |ASDOR604-10|Cham0553
Heterospilus sp. |ASDOR157-09|CNIN81
Heterospilus sp. |ASDOR452-10|Cham-0356
Heterospilus sp. |ASDOR619-10|Cham0568
Heterospilus sp. |ASDOR678-10|Cham0627
Heterospilus sp. |ASDOR753-10|Cham0702
Heterospilus sp. |ASDOR691-10|Cham0640
Heterospilus sp. |ASDOR624-10|Cham0573
Heterospilus sp. |ASDOR726-10|Cham0675
Heterospilus sp. |ASDOR590-10|Cham0539
Heterospilus sp. |ASDOR495-10|Cham0444
Heterospilus sp. |ASDOR544-10|Cham0493
Heterospilus sp. |ASDOR133-09|CNIN52
Heterospilus sp. |ASDOR177-09|CNIN103
Heterospilus sp. |ASDOR247-10|Cham-0151
Heterospilus sp. |ASDOR346-10|Cham-0250
Heterospilus sp. |ASDOR347-10|Cham-0251
Heterospilus sp. |ASDOR786-10|Cham0735
Heterospilus sp. |ASDOR190-09|CNIN117
Heterospilus sp. |ASDOR714-10|Cham0663
Heterospilus sp. |ASDOR652-10|Cham0601
Heterospilus sp. |ASDOR529-10|Cham0478
Heterospilus sp. |ASDOR622-10|Cham0571
Heterospilus sp. |ASDOR277-10|Cham-0181
Heterospilus sp. |ASDOR649-10|Cham0598
Heterospilus sp. |ASDOR742-10|Cham0691
Heterospilus sp. |ASDOR315-10|Cham-0219
Heterospilus sp. |ASDOR234-10|Cham-0138
Heterospilus sp. |ASDOR209-10|Cham-0113
Heterospilus sp. |ASDOR325-10|Cham-0229
Heterospilus sp. |ASDOR836-10|Cham0785
Heterospilus sp. |ASDOR807-10|Cham0756
Heterospilus sp. |ASDOR808-10|Cham0757
Heterospilus sp. |ASDOR795-10|Cham0744
Heterospilus sp. |ASDOR806-10|Cham0755
Heterospilus sp. |ASDOR809-10|Cham0758
Heterospilus sp. |ASDOR832-10|Cham0781
Heterospilus sp. |ASDOR805-10|Cham0754
Heterospilus sp. |ASDOR803-10|Cham0752
Heterospilus sp. |ASDOR801-10|Cham0750
Heterospilus sp. |ASDOR804-10|Cham0753
Heterospilus sp. |ASDOR796-10|Cham0745
Heterospilus sp. |ASDOR798-10|Cham0747
Heterospilus sp. |ASDOR794-10|Cham0743
Heterospilus sp. |ASDOR248-10|Cham-0152
Heterospilus sp. |ASDOR503-10|Cham0452
Heterospilus sp. |ASDOR680-10|Cham0629
Heterospilus sp. |ASDOR675-10|Cham0624
Heterospilus sp. |ASDOR090-09|Cham-0090
Heterospilus sp. |ASDOR167-09|CNIN92
Heterospilus sp. |ASDOR593-10|Cham0542
Heterospilus sp. |ASDOR221-10|Cham-0125
Heterospilus sp. |ASDOR416-10|Cham-0320
Heterospilus sp. |ASDOR171-09|CNIN97
Heterospilus sp. |ASDOR273-10|Cham-0177
Heterospilus sp. |ASDOR427-10|Cham-0331
Heterospilus sp. |ASDOR426-10|Cham-0330
Heterospilus sp. |ASDOR428-10|Cham-0332
Heterospilus sp. |ASDOR501-10|Cham0450
Heterospilus sp. |ASDOR072-09|Cham-0072
Heterospilus sp. |ASDOR163-09|CNIN87
Heterospilus sp. |ASDOR169-09|CNIN94
Heterospilus sp. |ASDOR657-10|Cham0606
Heterospilus sp. |ASDOR091-09|Cham-0091
Heterospilus sp. |ASDOR732-10|Cham0681
Heterospilus sp. |ASDOR160-09|CNIN84
Heterospilus sp. |ASDOR175-09|CNIN101
Heterospilus sp. |ASDOR824-10|Cham0773
Heterospilus sp. |ASDOR261-10|Cham-0165
Neoheterospilus sp. |ASDOR828-10|Cham0777
Heterospilus sp. |ASDOR634-10|Cham0583
Heterospilus sp. |ASDOR588-10|Cham0537
Heterospilus sp. |ASDOR560-10|Cham0509
Heterospilus sp. |ASDOR722-10|Cham0671
Heterospilus sp. |ASDOR556-10|Cham0505
Heterospilus sp. |ASDOR183-09|CNIN110
Heterospilus sp. |ASDOR189-09|CNIN116
Heterospilus sp. |ASDOR711-10|Cham0660
Heterospilus sp. |ASDOR755-10|Cham0704

