



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

PEDRO NOAH DE XAVIER

TAXONOMIA INTEGRATIVA EM COLEOPTERA: uma revisão

**RECIFE
2024**

PEDRO NOAH DE XAVIER

TAXONOMIA INTEGRATIVA EM COLEOPTERA: uma revisão

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso do Bacharelado em Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Fábio Correia Costa

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Luciana Iannuzzi

RECIFE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Xavier, Pedro Noah de.

Taxonomia integrativa em Coleoptera: uma revisão / Pedro Noah de Xavier. -
Recife, 2024.
44, tab.

Orientador(a): Fábio Correia Costa

Cooorientador(a): Luciana Iannuzzi

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2024.

1. Taxonomia integrativa. 2. Coleoptera. 3. Revisão bibliográfica. I. Costa,
Fábio Correia. (Orientação). II. Iannuzzi, Luciana. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

PEDRO NOAH DE XAVIER

TAXONOMIA INTEGRATIVA EM COLEOPTERA: uma revisão

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso do Bacharelado em Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 23/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Dr. Fábio Correia Costa (Orientador)

Departamento de Zoologia / UFPE

Dra. Luciana Iannuzzi (1º Titular)

Departamento de Zoologia / UFPE

MSc. Lucas Matheus Nascimento Silva (2º Titular)

Universidade Federal de Pernambuco / UFPE

MSc. João Carlos da Silveira Regueira (Suplente)

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal / UFPE

RECIFE

2024

AGRADECIMENTOS

Sou grato aos meus orientadores, Dr. Fábio Correia Costa e Dra. Luciana Iannuzzi, sem o apoio dos quais este trabalho não teria se concretizado.

Um inseto é mais complexo que um poema

Não tem autor

Move-o uma obscura energia

Um inseto é mais complexo que uma hidrelétrica

Também mais complexo

que uma hidrelétrica

é um poema

(menos complexo que um inseto)

e pode às vezes

(o poema)

com sua energia

iluminar a avenida

ou quem sabe

uma vida.

Ferreira Gullar

RESUMO

A ordem Coleoptera apresenta aproximadamente 390.000 espécies descritas, possuindo o maior índice de diversidade dentro da linhagem dos insetos. A identificação de vários grupos de Hexapoda baseia-se principalmente na aplicação do método clássico, o que pode ser problemático quando as espécies são crípticas. Unidirecionalmente, métodos morfológicos e moleculares apresentam deficiências quanto à identificação e delimitação de espécies. Desta forma, é necessário a abordagem multidisciplinar da taxonomia clássica que, ao fazer combinações de características morfológicas com dados biológicos adicionais, permite a criação de taxonomias integrativas. O presente trabalho objetivou realizar uma revisão teórica quanto a aplicação de métodos de taxonomia integrativa em Coleoptera. Para isto, a metodologia foi articulada por revisão de literatura. Foram levantados artigos acadêmicos publicados no período de 2019 a 2023. Somaram-se um total de 22 artigos, dentre os quais, a integração dos dados moleculares ocorreu em 51,5% das vezes. A morfometria geométrica e o NIRS foram integrados em seis e dois trabalhos, respectivamente. Em pesquisas taxonômicas com os coleópteros, os métodos integrativos frequentemente utilizados são os moleculares e os morfométricos. Embora o método NIRS seja incipiente na ordem, os resultados obtidos são satisfatórios. Os artigos levantados apresentaram resultados significativos quanto ao uso integrado de métodos para resoluções taxonômicas neste grupo.

Palavras-chave: Métodos Integrativos; Coleoptera; Revisão Bibliográfica.

ABSTRACT

The order Coleoptera has approximately 390,000 described species, having the highest diversity index within the insect lineage. The identification of various groups of Hexapods is mainly based on the application of the classical method, which can be problematic when the species are cryptic. Unidirectionally, morphological and molecular methods present deficiencies in the identification and delimitation of species. Therefore, a multidisciplinary approach to classical taxonomy is necessary which, by making modifications to morphological characteristics with additional biological data, allows the creation of integrative taxonomies. The present work aimed to carry out a theoretical review on the application of integrative taxonomy methods in Coleoptera. For this, a methodology was articulated through a literature review. Academic articles published between 2019 and 2023 were collected. A total of 22 articles were collected, among which, the integration of molecular data occurred 51.5% of the time. Geometric morphometrics and NIRS were integrated in six and two works, respectively. In taxonomic research with Coleoptera, the integrative methods frequently used are molecular and morphometric. Although the NIRS method is incipient in order, the results obtained are predominant. The articles collected presented important results regarding the integrated use of methods for taxonomic resolutions in this group.

Key-words: Integrative Methods; Coleoptera; Literature review.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

TABELA 1 – Total de artigos referentes à taxonomia integrativa em Coleoptera entre 2019 e 2023.....	25
FIGURA 1 – Concentração de trabalhos relacionados ao método molecular.....	26
FIGURA 2 – Concentração de dados moleculares e morfológicos em Coleoptera no ano de 2022.....	27
FIGURA 3 – Percentuais das famílias de Coleoptera comumente estudadas.....	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 Fundamentos e aspectos históricos da taxonomia e sistemática.....	12
2.2 Taxonomia integrativa.....	17
2.1.1 MÉTODOS INTEGRATIVOS.....	17
2.1.2 Método clássico.....	17
2.1.3 Estudos moleculares.....	18
2.1.4 Morfometria geométrica.....	19
2.1.5 Filogeografia.....	20
2.1.6 Quimiotaxonomia.....	21
2.1.7 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS).....	21
2.1.1.2 ORDEM COLEOPTERA.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
5 RESULTADOS.....	24
5.1 Intervalo de tempo vs métodos integrativos.....	24
5.2 Métodos integrativos vs famílias de Coleoptera.....	24
6 DISCUSSÃO.....	28
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

A ordem Coleoptera é o clado mais diverso de Hexapoda, possuindo em torno de 390.000 espécies descritas (Gullan, 2017). Os besouros, como são popularmente conhecidos, ocupam basicamente todos os nichos ecológicos, habitando desde o meio terrestre, água doce e marinha, a zonas entremarés e micro-habitats (Gullan, 2017). Os coleópteros são de grande importância ecológica, auxiliando em diversos serviços ecossistêmicos, como polinização e ciclagem de nutrientes. Além de muitos grupos possuírem importância econômica como potenciais pragas agrícolas. Neste sentido, a correta delimitação das espécies é importante para a efetivação de estratégias para a conservação destes.

Em linhas gerais, a taxonomia faz uso de métodos clássicos calcados na morfologia externa e aprimorados a partir da criação dos adventos da microscopia (Hosking et al., 1976; Minelli, 1993; Padial et al., 2010). A principal ferramenta de identificação na área molecular é o DNA barcoding, que consiste em curtas sequências de DNA que podem ser amplificadas pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sequenciadas e utilizadas para discriminar e identificar espécies. O trecho regularmente utilizado é o gene mitocondrial citocromo c oxidase I (COI) (Hebert et al., 2003). As formas e estruturas morfológicas podem ser medidas, quantificadas e comparadas através de variáveis, como morfologias geométricas, com o auxílio de modelos, algoritmos e softwares (Rohlf, 1990; Lawing; Polly, 2009). Um outro método é a filogeografia. Esta agrupa evidências da micro- e macroevolução (Avice, 2009) e tem como foco empírico a paisagem (Lemey et al., 2009; Rius; Turón, 2020), que torna possível reconstruir árvores genealógicas principalmente através do DNA mitocondrial (mtDNA) (Avice et al., 1979).

A pesquisa taxonômica cumpre diferentes funções (Sandall et al., 2023), seja fornecendo informações sobre os táxons que auxiliam na criação de coleções biológicas, ou na investigação forense, ao permitir o reconhecimento da biota que integra a cena do crime. Da mesma forma, atua nas áreas da farmacologia, contribuindo na produção de fármacos com especificidade microbiológica, e da engenharia florestal e agricultura, ao reconhecer espécies benéficas, pragas e invasoras. Na saúde pública e na biossegurança, é um importante mecanismo de identificação de potenciais vetores de doenças (Iriondo, 2000). Em termos de biodiversidade esta ciência contribui no desenvolvimento de inventários faunísticos. Uma outra área onde é influente são nos debates filosóficos (Kunz, 2012), especialmente quanto à secular problemática acerca do conceito de espécie, unidade central da taxonomia.

A identificação de vários grupos de Hexapoda baseia-se principalmente na aplicação do método clássico, o que pode ser problemático quando as espécies são crípticas. Unidirecionalmente, métodos morfológicos e moleculares apresentam deficiências quanto à identificação e delimitação de espécies. A morfologia comparada carece de conhecimento suficiente para delimitação e revisão taxonômica devido a plasticidade fenotípica presente nos caracteres para diagnose. Outros dois problemas consistem na ausência de chaves de identificação para os espécimes imaturos, e a pouca atenção dada às formas crípticas (Cognato et al., 2006; Wang et al., 2015). A análise molecular tem baixa precisão em cenários biogeográficos pouco conhecidos, onde estes métodos mostram impossibilidade no reconhecimento de linhagens-irmãs recém surgidas e da biodiversidade ainda não documentada (Pires et al., 2010). Outro problema é datar as taxas de variabilidade genética a nível inter- e intraespecífico, carentes em vários táxons devido a sobreposição de sequências gênicas (Lee, 2004). Tendo em mente a superação destes déficits, autores como Dayrat (2005), propuseram intercambiar amplamente os novos e os velhos métodos e conceitos taxonômicos, dando origem à taxonomia integrativa. Trata-se de uma abordagem multidisciplinar da taxonomia clássica que faz combinações de características morfológicas com dados biológicos adicionais.

A taxonomia integrativa parte do pressuposto de que os resultados obtidos aplicando variados métodos devem estar integrados a fim de aumentar a coesão de hipóteses taxonômicas. Pensando nisso, esta tese publicada por Dayrat (2005), visa unificar modelos e métodos sistemáticos clássicos e aqueles oriundos do amplo desenvolvimento tecnológico, mais recentes na história das ciências naturais. Este novo campo não pretende minar a taxonomia clássica, mas sim, garantir o rigor dos resultados de pesquisas em comunhão com a ecologia, etologia, ontogenética, história de vida, química e zoogeografia (Schlick-Steiner et al., 2010). Neste sentido, por recorrer a várias fontes, taxonomistas têm contribuído com o aumento de amostragens, inventários e conservação em biodiversidade (Martínez, 2015; Sukumaran; Gopalakrishnan, 2015), e facilitado a identificação de espécies crípticas (Bickford et al., 2007). Outras áreas como medicina, biotecnologia e agricultura também são indiretamente beneficiadas (German, 2014).

Desta forma, o presente trabalho visou reunir informações sobre a aplicação de diferentes métodos integrativos nas pesquisas taxonômicas de Coleoptera para além dos já consolidados na morfologia e genética molecular. Também se objetivou realizar uma revisão teórica quanto às discussões sobre o uso integrado desses métodos nesta mesma ordem.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fundamentos e aspectos históricos da taxonomia e sistemática

Identificar, sistematizar e classificar são atividades milenares nas culturas e sociedades humanas. O termo “taxonomia” foi cunhado por AP de Candolle em 1813, e é derivado das palavras gregas *taxis* (arranjo) e *nomos* (lei). Trata-se de uma ciência de caráter teórico-prático que lida com a identificação, descrição, nomenclatura e classificação dos seres vivos ou extintos (Tahseen, 2014). Em contraste, “sistemática” vem da palavra grega latinizada “*systema*”, – referente ao termo utilizado por Linnaeus na 4ª edição de seu *Systema Naturae* (1758). Esta, por sua vez, analisa as distintas características das espécies e busca compreender suas relações evolutivas. Assim, acaba por implementar as hipóteses taxonômicas (Pavlinov, 2021). Não obstante estes dois conceitos possam aparecer correlacionados, ambos referem-se a disciplinas diferentes (Wägele, 2005).

Por volta de 400 a.C., os gregos propuseram o que no Ocidente se considera escrito científico (Schuh; Brower, 2009), sendo a classificação natural aristotélica a principal referência do período. Este modelo consistia em duas grandes categorias de seres vivos: animais e plantas, subdivididas por habitat (Lomar, 2020). Aluno de Platão, Aristóteles (384-322 a.C.), teve seu trabalho traduzido para o idioma árabe e também para o latim pelos romanos, o que acredita-se ter garantido a dispersão de suas ideias pelo mundo (Schuh; Brower, 2009).

Na modernidade, a taxonomia teve como principal fonte o *Systema Naturae* (1758) de Carolus Linnaeus (1707-1778), botânico e naturalista sueco. Linnaeus hierarquizou os organismos em categorias seguindo um método binomial, utilizado até hoje na nomenclatura taxonômica (Ridley, 2007). George-Louis Leclerc, conde de Buffon (1707-1788), naturalista francês, escreveu a coleção enciclopédica *Histoire naturelle* (1749-1804), contrapondo o sistema lineano de história natural ao nomear e descrever hábitos e padrões comportamentais dos seres vivos, em particular dos animais (Stevens, 2002).

Outros dois franceses que atuaram no desenvolvimento do período clássico da sistemática foi Jean Baptiste de Lamarck (1744-1829), com suas *Philosophie zoologique* (1809) e *Système des animaux sans vertèbres* (1801), onde classifica e relaciona grupos de animais invertebrados (Morrone, 2013); e o zoólogo George Cuvier (1769-1832), ao recorrer à anatomia comparada de estruturas e órgãos internos e à paleontologia para sistematizar a zoologia (Stevens, 2002).

O século XVIII tornou-se, então, o marco histórico da chamada sistemática clássica após o trabalho de Linnaeus e foi encerrada com a publicação de *A Origem das Espécies* (1859) de Charles Darwin (1809-1882), tese da Teoria da Evolução e precursora da sistemática filogenética (Morrone, 2013). Guiado pelos estudos de Darwin, o biólogo alemão Ernst Haeckel (1834-1919), criou uma classificação com os reinos Protista, Plantae e Animalia, esquematizando as relações entre os organismos através de uma árvore genealógica, mas dentro de um padrão semelhante à hierarquia aristotélica, ao invés da proposta darwiniana de ramificações (Dias et al., 2019).

Na gênese do século XX, com o surgimento da Síntese Evolutiva Moderna – muitas vezes chamada de Neodarwinismo –, trabalho que uniu a teoria da seleção natural de Darwin à teoria da hereditariedade de Mendel (Ridley, 2006), os taxonomistas enfrentaram um novo desafio: introduzir os postulados da Teoria Evolutiva nos sistemas biológicos de classificação, fazendo eclodir a taxonomia evolutiva (Williams, 2008). Esta escola utilizava homoplasias, caracteres semelhantes originados de convergência evolutiva (Ridley, 2006). Além disso, também faziam uso das homologias, estruturas morfolologicamente idênticas, ocasionadas por evolução comum, presentes em mais de um táxon distinto para a investigação de grupos naturais e artificiais. A partir das topologias encontradas, são formados dois grandes grupos: os monofiléticos, aqueles relacionados entre si pelo compartilhamento de um ancestral comum e os parafiléticos, aqueles agrupamentos que contam com alguns descendentes de uma linhagem ancestral comum. Por outro lado, há um terceiro tipo, os polifiléticos, que podem apresentar espécies com dois ou mais ancestrais distintos (Wilkins, 2009; Ridley, 2006). A partir deste período histórico é que as relações evolutivas passam a ser compreendidas mediante processos cladogenéticos de especiação, nos quais uma espécie ancestral ramifica-se dando origem a duas novas espécies; e as modificações resultantes da anagênese, que ocorrem ao longo da própria linhagem (Ridley, 2006).

Contudo, por carecer de modelos probabilísticos e pelas críticas feitas pelos pesquisadores de que, em certa medida, seria subjetiva, outras duas propostas surgiram: a taxonomia numérica, publicizada pelos fenéticos (Oswald et al., 2020). Por intento de organizar objetivamente a diversidade natural, os fenéticos propuseram que análises estatísticas e quantitativas deveriam ser aplicadas para contemplar as características biológicas em sua totalidade (Minelli, 1993). Assim, na taxonomia numérica, o grau de semelhança biológica geral entre os organismos se sobressai em relação ao histórico evolutivo. A aposta era que as Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs), acrônimo do inglês *Operational Taxonomic Units*, fossem capazes de medir a distância e similaridade entre

os grupos. Era da união entre as OTUs e os algoritmos de agrupamento que os fenogramas podiam ser inferidos (Vane-Wright, 2013).

Além da implicação gerada pela exclusão dos fatores evolutivos na classificação natural, a fenética também lidava com uma larga gama de modelos matemáticos disponíveis para a operacionalidade dos dados obtidos. Os fenéticos, em defensiva, alegavam não haver problema com a elaboração artificial de agrupamentos, contanto que resultassem efeitos práticos (Oswald et al., 2020). Por outro lado, os cladistas opuseram-se brutalmente aos fundamentos da taxonomia numérica ao considerar as informações evolutivas, contrastando homologias de homoplasias (Wilkins, 2009).

Na proposta dos cladistas, a sistemática filogenética, três categorias são reconhecidas: as autapomorfias, os caracteres presentes de forma exclusiva em um táxon; simplesiomorfias, aqueles caracteres em comum a todos os táxons; e as sinapomorfias, caracteres comuns a subgrupos de mais de um táxon (Vane-Wright, 2013) e que os reúnem. Nessa escola, as relações evolutivas são representadas através de cladogramas. Esses esquemas, estruturalmente, possuem ramos terminais que partem de nós, que indicam que há uma relação de ancestralidade evolutiva comum entre as linhagens. Tais relações filogenéticas são compostas por grupos monofiléticos, sendo considerados naturais e corroborados pela presença de sinapomorfias, levando-as a serem as únicas úteis para as construções hipotéticas (Vane-Wright, 2013). Deste modo, grupos parafiléticos e polifiléticos são considerados arbitrariedades criadas, ou são articulados com base no contraste de fenótipos (Williams, 2008). Outra questão a ser levada em conta é o uso que os cladistas fazem do princípio da máxima parcimônia. Esse critério consiste em avaliar as hipóteses disponíveis e selecionar aquela que apresentar o menor número de rotas possíveis, diminuindo ao máximo o nível de complexidade. No entanto, o crivo da parcimônia serve somente para hipóteses pares, que tenham o mesmo teor explicativo (Oswald et al., 2020).

Essencialmente, a sistemática filogenética é o modelo hegemônico na Biologia do século XXI, mas que têm constantemente passado por uma série de adaptações sob o escrutínio crítico dos taxonomistas. Nesta linha de aprimoramento da área, o PhyloCode, Código Internacional de Nomenclatura Filogenética, é um exemplo de proposta recente que visa superar a taxonomia clássica ao substituir a classificação lineana por linhagens monofiléticas (Cantino; De Queiroz, 2000). O PhyloCode é considerado uma parataxonomia por não requerer que o trabalho taxonômico seja necessariamente executado por um especialista, e ao invés de espécimes reconhece as Unidades Taxonômicas Reconhecíveis (RTUs), acrônimo do inglês *Recognizable Taxonomic Units* (Okiwelu; Noutcha, 2014).

Toda essa busca por aprimorar a sistemática ocorre em detrimento de seu vasto uso e importância. Como bem abordado por Lyal e colaboradores (2008), e posto em rol por Noriega e colaboradores (2015), os aspectos teóricos e técnicos da taxonomia biológica são aplicados nas mais variadas ciências, sendo imprescindíveis para análises robustas do objeto estudado. Ocorre que as relações evolutivas dependem das unidades taxonômicas, o que também implica extrair informações fenotípicas, morfológicas, etológicas, moleculares e fisiológicas. Nesse sentido, a falta de delimitação taxonômica precisa pode afetar diretamente a qualidade das relações filogenéticas, assim como na elaboração de estratégias de conservação (Thomson et al., 2018; Fišer et al., 2018).

Quase um milhão de espécies de animais já foram identificadas e descritas por taxonomistas nos últimos 230 anos, mas é possível que centenas de espécies tenham ou possam ser extintas antes de serem descobertas. Para saber quais espécies correm perigo ou encontram-se em estado de ameaça de extinção é necessário conhecê-las, e a ciência taxonômica é a principal ferramenta para isto. Qualquer pesquisa a ser iniciada precisa especificar o nome científico do organismo estudado, para que desta forma todas as informações referentes à espécie válida possam ser armazenadas e consultadas por pesquisadores de diferentes áreas de atuação e de todas as partes do mundo (Narendran, 2000). Até mesmo um campo aparentemente remoto como a filosofia é diretamente influenciado por esta discussão referente ao conceito e a delimitação de espécie (Kunz, 2012).

Não apenas filósofos, mas taxonomistas e biólogos em geral, também preocupados com a interpretação e conceituação de espécie, publicaram inúmeras teses por longas décadas. Uma delas foi a de espécie morfológica ou morfoespécie que, segundo Cronquist (1978), é uma unidade distinta de seus grupos aparentados por caracteres morfológicos, não levando em conta propriedades ecológicas e comportamentais. Este conceito recebeu críticas de Mayr (1942) por simples diferenças baseadas em categorias biológicas distintas, desde idade à diferenciação sexual. O autor também aponta a vasta quantidade de espécies morfológicamente semelhantes, como o caso de espécies-irmãs e as espécies crípticas, que são fenotipicamente idênticas e encontram-se isoladas para a reprodução (Struck; Cerca, 2019). De acordo com Wheeler (2008), um outro problema é a existência de espécies polimórficas; tipos morfológicos diversos dentro de uma mesma espécie, devido à variação genética individual.

Mayr (1942) e Dobzhansky (1937) defenderam o conceito biológico de espécie (CBE), enquanto um grupo ou uma população de indivíduos capazes de cruzar entre si e gerar descendentes férteis, mas que estão reprodutivamente isolados de outros grupos a eles

relacionados. Anos depois, Simpson (1951), na tentativa de suprimir a lacuna deixada pelo CBE quanto à inclusão de organismos assexuados e as espécies já em extinção, propôs a espécie evolutiva. Para Wiley (1981), este conceito refere-se a uma linhagem única de populações ancestrais-descendentes que conserva, no espaço-tempo, sua identidade através de características diferentes das de outras linhagens próximas, possuindo sua própria história evolutiva. Em 1976, Van Valen sugeriu a espécie ecológica, compreendendo-a enquanto uma ou mais linhagens aparentadas que se distribuem por uma zona de adaptação não muito diferente daquela ocupada por outras linhagens. Ainda segundo ele, estas espécies se reproduzem e se desenvolvem de modo independente das demais encontradas fora de suas limitações biogeográficas.

Nas décadas seguintes, outros novos conceitos de espécie foram apresentados. Um deles por Templeton (1994), com a ideia de espécie de coesão, em que uma linhagem seria resultado de forças básicas de microevolução, como seleção natural, deriva genética e, ocasionalmente, fluxo gênico. Ou seja, este autor, ao considerar a genética de populações como explicação para a origem das semelhanças fenotípicas entre as espécies, aproxima-se da noção de espécie evolutiva. Como discutido por Claridge (1997), o conceito filogenético de espécie originou-se da análise crítica do conceito biológico de espécie, por considerar que o fluxo gênico não seria o único fator atuante no processo de diferenciação de grupos; e da aproximação entre a sistemática filogenética e a taxonomia. Sendo assim, Nixon e Wheeler (1990) sugeriram que uma espécie filogenética consiste em uma pequena linhagem de organismos sexuais ou assexuais reunidos por caracteres exclusivos e comparáveis, de modo que seja possível distinguir variações intraespecíficas das interespecíficas.

Apesar da importância da taxonomia para manutenção da biodiversidade, alguns autores (Noriega et al., 2015; Britz et al., 2020) têm chamado a atenção para uma possível crise taxonômica, como assim consideram. Alertando principalmente para o pouco investimento financeiro, carência de apoio de instituições públicas, arrecadação de fundos e para a baixa formação de taxonomistas qualificados para ampliar o levantamento da biodiversidade global (Britz et al., 2020). Ou seja, acredita-se haver uma relação estreita entre a perda massiva da biodiversidade e esta crise denunciada. Segundo estes autores, a necessidade de métodos acurados e que possam intercambiar a taxonomia às outras ciências é urgente. Neumann et al., 2018, argumentam ainda que a legislação de pesquisas em biodiversidade é dificultada pelas disputas intercapitalistas globais. Fato que dificulta estipular a real taxa de distribuição geográfica dos grupos, que têm se mostrado muito maior do que a atual.

2.2 Taxonomia integrativa

Delimitar espécies pode ser um desafio (Fujita et al. 2012; Sangster, 2014), mas que precisa ser superado devido a sua importância essencial para a pesquisa em biologia comparada, e por seu caráter de unidade básica para conservação e recuperação da biodiversidade (Frankham et al., 2012). Pensando nisso, a taxonomia integrativa, tese publicada por Dayrat (2005), visa unificar modelos e métodos sistemáticos clássicos e aqueles oriundos do amplo desenvolvimento tecnológico, mais recentes na história das ciências naturais. São reconhecidos diversos métodos dentro desta proposta: além do clássico uso da morfologia, há o sequenciamento genômico, a sistemática filogenética e a filogeografia (Sukumaran; Gopalakrishnan, 2015). Medidas morfométricas, testes estatísticos altamente sofisticados, modelos ecológicos, informações biogeográficas (Arribas et al., 2012), quimiotaxonomia e espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) (Cruz-Barraza et al., 2012; Carvalho et al., 2023) também entram no rol metodológico.

A taxonomia integrativa parte do pressuposto de que os resultados obtidos aplicando estes variados métodos devem estar integrados a fim de aumentar a coesão de hipóteses taxonômicas. Alguns dos critérios que devem compor uma pesquisa neste campo foram apresentados por Cícero e colaboradores, (2021). De início, deve haver uma definição precisa do conceito de espécie a ser utilizado. Também é necessário: buscar analisar, apresentar e discutir se há congruência entre o conjunto de caracteres estudados e considerar uma amostragem geográfica robusta para comparar esses caracteres. Outro critério inclui sempre avaliar fatores como seleção sexual e fluxo gênico, especialmente em grupos que se especiam mesmo em ausência de isolamento geográfico, chamados parapátricos. Por fim, é preciso realizar comparações entre os táxons evolutivamente relacionados para auxiliar na conclusão quanto ao grau de divergência de caracteres até um possível status de espécie nova.

2.1.1 MÉTODOS INTEGRATIVOS

2.1.2 Método clássico

A taxonomia clássica é um método simples e de baixo custo financeiro utilizado para identificar, classificar, nomear e descrever organismos com base em características morfoanatômicas. As classificações são hierarquizadas e o sistema de nomenclatura é

binomial, ambos derivados do modelo linneano. Esta metodologia lida com um modo de organização artificial por não refletir em suas classificações as relações evolutivas naturais. Através de regras de um Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN), elaborado em 1999 e frequentemente monitorado por uma comissão internacional de cientistas, nomes repetidos ou redundantes dados a estas categorias são evitados (Martinez-Goss; Arguelles, 2020; Tahseen, 2014).

No início da década de 1950, os taxonomistas puderam contar com a criação da microscopia eletrônica e, anos depois, com o desenvolvimento da microscopia eletrônica de varredura (Hosking et al., 1976). Ambas as técnicas trouxeram maior sofisticação e precisão às análises morfológicas (Minelli, 1993), hegemônicas há mais de 250 anos (Padial et al., 2010). São delas que surgem as observações e documentações de morfologia externa geral (cabeça, pronoto, élitro, meso e metatórax, abdômen e pernas). As estruturas de grande valor para diagnose, tal qual as genitálias, e as etapas do desenvolvimento, como o edeago, também são estudadas por essas técnicas (Okiwelu; Noutcha, 2014).

Os levantamentos de caracteres são acompanhados de chaves taxonômicas que, quando publicizadas, permitem aos taxonomistas e demais pesquisadores a comparação entre espécimes de diferentes coleções e museus científicos. Para executar uma pesquisa na área é requerido uma boa capacidade analítica e de avaliação para identificar e investigar os táxons. Embora sejam métodos antigos, os trabalhos com morfologia não param de se aprimorar. Desde meados de 1980 que em laboratórios usam-se programas e softwares para a reconstrução de filogenias, permitindo que, a partir de novas análises de conjuntos inteiros de caracteres, novas hipóteses filogenéticas sejam elaboradas (Okiwelu; Noutcha, 2014; Tahseen, 2014).

2.1.3 Estudos moleculares

As principais tecnologias moleculares para o sequenciamento de DNA surgiram na década de 1970 e deram base para as atuais técnicas automatizadas, incluindo os primeiros trabalhos do Projeto Genoma Humano (Zolet, 2017). Inicialmente com o método de Sanger, um modelo rápido, eficiente e pouco radioativo, que utilizava a síntese entre DNA polimerase e um pequeno *primer* de oligonucleotídeo para iniciar a reação em cadeia (Sanger et al., 1977). E, posteriormente, com o método dos autores Maxam e Gilbert (1977), que buscavam sequenciar o DNA pela degradação química desta molécula.

Como apontado por Pires e Marinoni (2010), o uso do DNA como método surgiu enquanto alternativa à morfologia por serem considerados os seguintes limites: as chaves taxonômicas específicas para o reconhecimento de fases imaturas são escassas e pouca atenção é dada às espécies crípticas. Outro ponto crítico refere-se ao trabalho de um taxonomista clássico implicar em um conhecimento altamente especializado dos grupos, o que impossibilita a identificação das espécies por outros pesquisadores. Dentre os contrapontos, o fato da plasticidade morfológica poder levar a erros de identificação também é um elemento. Por sua singularidade nucleotídica, o DNA passou a ser considerado um tipo de “código de barras” capaz de superar os limites da taxonomia clássica (Hebert et al., 2003).

O método é prático, dispensa grandes investimentos financeiros e permite identificar a espécie em qualquer fase do ciclo de vida, incluindo as formas crípticas (Waugh, 2007; Witt et al., 2006). O DNA barcoding é curto e de fácil amplificação por PCR e sequenciamento. Ele lida com minúsculas sequências de DNA conservadas e extraídas da molécula central, o que permite o desenvolvimento de *primers* universais (Waugh, 2007; Savolainen et al., 2005). A região 648 pb do gene do citocromo c oxidase subunidade I (COI) é o mais utilizado para táxons animais (Hebert et al., 2003). A escolha do COI ocorreu devido algumas vantagens: a exclusividade dos codificadores de proteínas da mitocôndria e o rigor dos *primers* universais, que propicia o sequenciamento de boa parte de organismos modelos dos grupos animais (Elmeer et al., 2012). O COI também é capaz de lidar com múltiplos dados filogenéticos, tornando possível integrá-lo às análises filogeográficas intraespecíficas e com alta taxa de mutação, sobretudo em relação ao DNA nuclear, que cede informações biparentais (Hupalo et al., 2018; Vieira et al., 2019).

2.1.4 Morfometria geométrica

As técnicas morfométricas são essenciais para as ciências biológicas e médicas (Rohlf, 1990). Em ecologia e evolução, a morfometria é aplicada em estudos do desenvolvimento ontogenético, estratégias ecológicas de adaptação, morfologia funcional e patologia (Zelditch et al., 2004). Em sua forma clássica, a morfometria considerava variáveis tais como comprimento, largura e altura, medidas por instrumentos simples, como paquímetros, e analisadas com métodos de estatística uni e multivariada (Marcus, 1990). Neste período, entre os anos 1960 e 1970, as ferramentas multivariadas tornaram-se sofisticadas pelo uso de Análise de Variância (ANOVA), Análise Múltipla de Variância (MANOVA), Análise Múltipla de Covariância (MANCOVA), Análise de Componentes Principais (PCA), Análise de

Variáveis Canônicas (CVA) e Análise Fatorial e Análise Discriminante Linear (LDA) (Adams et al., 2004).

No entanto, no início de 1990, os dados morfológicos passaram a ser quantificados a partir de coordenadas geométricas cartesianas do corpo e das estruturas, em vez de variáveis lineares (Rohlf, 1990; Lawing; Polly, 2009). Com isso, alguns autores (Rohlf; Marcus, 1993; Adams et al., 2004) consideram um marco revolucionário para o campo da morfometria. Estas novas possibilidades deram origem à morfometria geométrica, área que permite medir e descrever quantitativamente a variação e covariação entre formas morfológicas e compará-las com outras variáveis (MacLeod, 2002; Reyment, 1982). Para isto, as principais ferramentas utilizadas compunham o que Adams e colaboradores (2013) chamaram de “Paradigma Procrustes”, que inclui Análise Generalizada de Procrustes (GPA), Análise Discriminante de Função (DFA), e os já citados PCA, ANOVA/MANOVA e CVA (Cooke; Terhune, 2015).

2.1.5 Filogeografia

Segundo Avise (2009), uma pesquisa filogeográfica integra evidências de processos micro e macroevolutivos ao se fundamentar nas áreas de biogeografia histórica, genética de populações e sistemática filogenética. A paisagem, ao incluir um recorte espaço-temporal, é um dos principais polos desta área, pois permite mapear e reconstruir árvores genealógicas especialmente a partir de sequências moleculares (Lemey et al., 2009; Rius; Turón, 2020). Sendo assim, para compreender os padrões de distribuição dessas linhagens e de suas histórias demográficas, seja no presente ou em outras eras geológicas, também é necessário extrair informações da genética molecular, etologia, ecologia, paleontologia e geologia (Avise, 2000).

Desde o surgimento da filogeografia, entre as décadas de 1970 e 1980 (Avise et al., 1979; Avise et al., 1987), o foco dos estudos com animais têm sido o DNA mitocondrial (mtDNA) (Avise et al., 1979). Isto ocorre porque esta molécula permite reconhecer componentes vestigiais desde as primeiras etapas de evolução das linhagens (Rocha et al., 2013). Porém, recentes ferramentas moleculares como o DNA microsatélite e polimorfismos de base única podem servir de informações complementares (Françoso et al., 2016; Rocha et al., 2013). Para uma análise filogeográfica concisa, os métodos empregados (Knowles; Carstens, 2007; Knowles, 2009; Françoso et al., 2016) na reconstrução de árvores filogenéticas, que costumam ser variância mutacional e coalescente, princípio da parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana, precisam estar alinhados às OTUs (Toulza et al., 2012).

2.1.6 Quimiotaxonomia

A quimiotaxonomia refere-se a um conjunto de métodos que, para identificar e classificar, baseia-se na observação de organismos evolutivamente próximos que possam apresentar características bioquímicas e fisiológicas comuns (Hao et al., 2015). As diferenças químicas e os metabólitos secundários são investigados em elementos da composição celular como poliaminas, lipídios polares, pigmentos, açúcares, ácidos graxos, quinonas e peptidoglicanos, de onde são extraídas informações agrupadas (Busse et al., 1996).

Além de ser discutido em termos de métodos moleculares e genotípicos, o conteúdo guanina + citosina (G+C) do DNA (mol%) pode ser considerado alvo da quimiotaxonomia, e medido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Mesbah et al., 1989). As propostas de autores como Lechevalier (1968;1977) e Schleifer (1985) guiam maneiras de isolar açúcares, aminoácidos e peptidoglicanos de parede celular. Uma outra inclusão, nesta metodologia, consistiu na espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por matriz com analisador por tempo de voo (MALDI-TOF) (Lay, 2000).

2.1.7 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) é uma técnica analítica rápida, não-destrutiva e econômica, empregada para classificar e caracterizar especialmente material biológico (Gillon, et al., 2001). A avaliação e obtenção da complexidade dos dados ocorre a partir de ferramentas quimiométricas, seguindo o princípio da espectroscopia de inferir a capacidade de absorbância da luz infravermelha próxima, em um comprimento de onda entre 780 e 2500 nm, de uma amostra (Pasquini, 2003). Com a emissão do espectro, o método NIRS é capaz de capturar a impressão bioquímica exclusiva do componente orgânico (Jouquet, et al., 2014).

Segundo Azevedo e colaboradores (2019), a técnica não deixa quaisquer tipos de resíduos, sendo necessárias poucas amostras, frescas ou secas, podendo ser trabalhada *in situ*. Desta forma, NIRS se sobressai em relação a alguns métodos moleculares por não ser caro e, em certo nível, não prejudicial, diferente do DNA barcoding. Nas últimas duas décadas, de acordo com Depickère e colaboradores (2019), houve uma crescente onda de estudos taxonômicos utilizando o método de espectroscopia no infravermelho próximo para identificar espécies de insetos. Esta técnica permite escanear a presença de hidrocarbonetos atuantes nas funções de comunicação intraespecífica, proteção contra dessecação e associados

à idade do espécime, presentes nas cutículas desses animais (Johnson; Naiker, 2019; Alegria et al., 2022). Como cada espécie possui moléculas únicas de hidrocarbonetos, alterações espectrais e vários padrões de vibrações podem significar a presença de espécies distintas (Rodríguez-Fernandez et al., 2011).

2.1.1.2 ORDEM COLEOPTERA

Coleoptera apresenta aproximadamente 390.000 espécies descritas, somando o maior índice de diversidade dentro da linhagem dos insetos (Gullan, 2017). O Brasil possui 35.568 espécies válidas (Costa et al., 2024). Os besouros, como são chamados, ocupam basicamente todos os nichos ecológicos, habitando desde o meio terrestre, água doce e marinha, a zonas entremarés e micro-habitats. Alimentam-se de estruturas internas e externas de vegetais e animais, e em todas as etapas de decomposição. Os hábitos de detritivoria e fungivoria são comuns. Poucos são parasitas (Gullan, 2017).

Este sucesso de adaptação pode ser explicado pela evolução das asas e pela variedade morfológica do aparelho bucal, que os permite desenvolver diferentes hábitos alimentares (Marinoni et al., 2001). As formas adultas, corriqueiramente, têm o exoesqueleto densamente esclerotizado, com o corpo variando de tamanho pequeno a muito grande. Na região dianteira, o par de asas do tipo élitro é rígido e, por vezes, até compacto. São os élitros que protegem o par de asas posteriores membranosas e o restante do corpo do animal, além de garantir o equilíbrio durante o voo, processo em que se mantêm estáticos e entreabertos (Costa Lima, 1952).

A anatomia externa dos coleópteros se subdivide em uma cabeça bem delimitada com olhos compostos desenvolvidos a ausentes, e sem presença de ocelos. O aparelho bucal conta com mandíbulas, peças bucais aptas a processar alimento sólido, ao morder e mastigar. As principais estruturas sensoriais, as antenas, em média contam com 11 segmentos (Costa Lima, 1952). Apresentam um protórax grande e móvel e um mesotórax com tamanho reduzido. No abdômen há aproximadamente 9 segmentos nas fêmeas e 10 nos machos. Os pares de pernas são grandes e móveis com aptidão para andar, cavar solo e madeira, e em algumas espécies, para nadar e saltar. A genitália dos machos é retrátil e trilobada e nas fêmeas geralmente se observa ovipositor. O desenvolvimento é holometabólico e as larvas apresentam grande variação morfológica (Gullan, 2017).

Por sua diversidade taxonômica e presença massiva em diferentes ecossistemas, os coleópteros compõem a dieta de alguns invertebrados e vertebrados, como aves, lagartos e

pequenos mamíferos (Speight et. al., 1999). Estes animais também costumam ser consumidos por seres humanos em culturas asiáticas e africanas devido ao alto teor nutricional (Gullan, 2017). Na agricultura, possuem importância econômica com um grande número de espécies fitófagas e predadoras de outros insetos e plantas nocivas para a lavoura, atuando no controle biológico (Costa Lima, 1952). Os besouros têm atividades ecológicas diversas: são polinizadores, dispersores de sementes, bioindicadores do nível de degradação florestal, e organismos fundamentais na ciclagem de nutrientes e na ciência forense (Oliveira, 2018; Zhang et al., 1997; Silva; Silva, 2011; Mariano et al., 2011; Fialho et al., 2022; Santos, 2014). Todas estas diferentes estratégias adaptativas morfofisiológicas e ecológicas dá à ordem vasta distribuição geográfica e permitem que sejam bem estudadas por taxonomistas e sistematas (Gullan, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Realizar uma revisão teórica quanto a aplicação de métodos de taxonomia integrativa em Coleoptera.

3.2 Objetivos específicos

- Apontar os métodos mais utilizados para identificação nos grupos de Coleoptera;
- Discutir como os métodos de forma integrada trazem evidências mais robustas em comparação aos métodos isolados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Articulada por revisão de literatura elaborada entre os anos de 2022 e 2023. Foram escolhidos artigos acadêmicos publicados no período de 2019 a 2023. Este recorte de cinco anos foi selecionado devido ao intervalo em que as publicações são atualizadas nas revistas científicas. Para realizar a pesquisa foram acessadas as seguintes plataformas de periódicos acadêmicos: Google Scholar, Periódicos CAPES, Pubmed e Scielo. Nas ferramentas de

navegação destes periódicos as buscas foram guiadas pelas palavras-chave: “methods of taxonomy”, “integrative taxonomy”, “integrative taxonomy in Coleoptera”, “geometric morphometrics”, “geometric morphometrics in Coleoptera”, “chemotaxonomy in Coleoptera”, “near-infrared spectroscopy (NIRS) in Coleoptera”, “phylogeography” e “phylogeography in Coleoptera”.

5 RESULTADOS

Foram levantados um total de 22 artigos referentes à taxonomia integrativa em Coleoptera (Tabela 1). Dentre os trabalhos analisados, os dados moleculares foram utilizados, de modo integrado, 17 vezes (em 51,5% dos trabalhos). A morfometria geométrica foi aplicada em seis trabalhos, e o NIRS, em dois. Ambos os métodos também estiveram em uso integrado nesses artigos.

5.1 Intervalo de tempo vs métodos integrativos

Dentre o período de intervalo amostrado, 2019 a 2023, percebemos que houve uma maior concentração de trabalhos relacionados ao método molecular (Figura 1). Ainda, dentre os intervalos amostrais, verifica-se que os artigos envolvendo dados moleculares e morfológicos em Coleoptera concentram-se no ano de 2022 (Figura 2), com um total de cinco trabalhos (Tabela 1). Em 2021, as pesquisas utilizando os métodos integrativos de filogeografia e morfometria geométrica contaram com três e dois estudos publicados, respectivamente. Contudo, no mesmo período, os dados moleculares se sobressaíram com quatro trabalhos (Tabela 1). Em contrapartida, todos os artigos utilizando a integração do método NIRS aparecem apenas no ano de 2023, com duas publicações (Figura 2).

5.2 Métodos integrativos vs famílias de Coleoptera

Quanto aos estudos publicados no intervalo amostral, verificamos que algumas famílias de Coleoptera, que corriqueiramente são estudadas dentre as 180 existentes, podemos destacar: Curculionidae (25% dos estudos levantados), seguidas das famílias Carabidae,

Scarabaeidae e Staphylinidae com 12,5% cada (Figura 3). Todas as demais famílias obtiveram um percentual inferior a 10%.

Artigos de taxonomia integrativa em Coleoptera publicados entre os anos de 2019 e 2023					
Ano de publicação	Metodologias empregadas				
	Dados moleculares	Filogeografia	Morfometria geométrica	NIRS	Quimiotaxonomia
2019					
	Brunke, et al. Niogret, et al. Pardo-Diaz, et al.		Brunke, et al. Pardo-Diaz, et al.		Niogret, et al.
2020	Moret, et al.				Caf, et al.
2021	Duran, et al. Stüben et al. Przybycień, et al. Wacławik, et al.	Duran, et al. Przybycień, et al. Wacławik, et al.	Wacławik, et al. Sheth, et al.		
2022	Berrilli, et al. Catzim, et al. Guerrero, et al. Sasanka, et al. Yoo, et al.	Berrilli, et al.			Johnson, et al.

2023	Lewis, et al. Růžička, et al. Zubrii, et al. Zubrii, et al.	Zubrii, et al.	Berrilli, et al. Zubrii, et al.	Crépon, et al. Ospina-Rozo, et al.	
------	--	----------------	------------------------------------	---------------------------------------	--

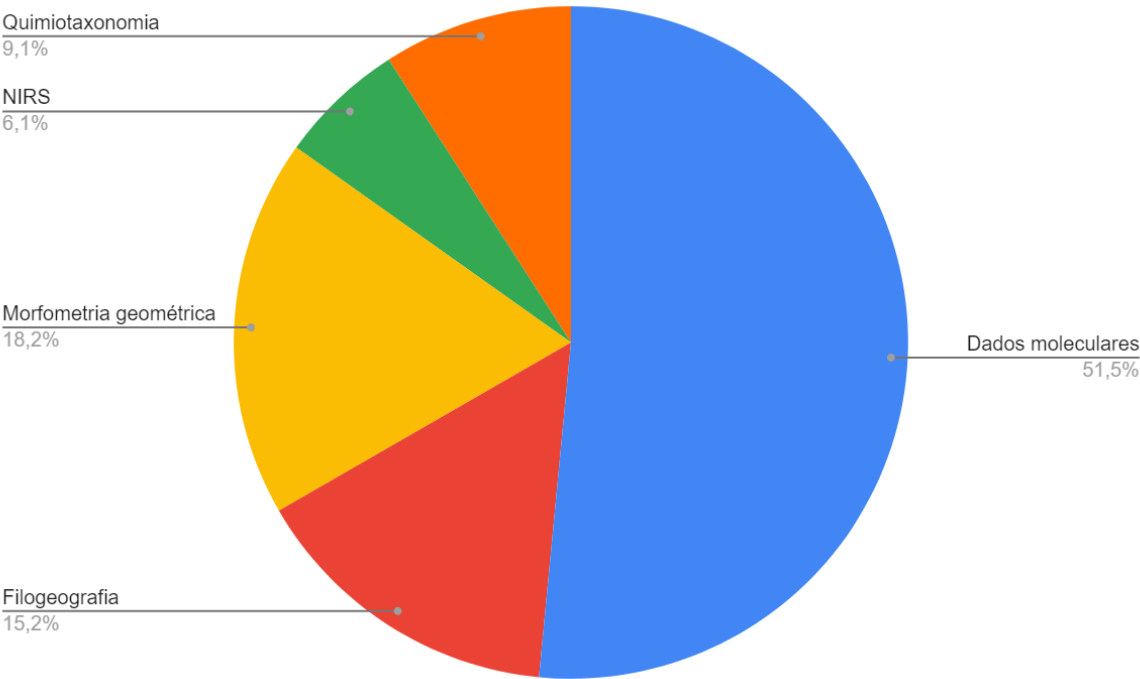


Figura 1. Percentual de métodos de taxonomia integrativa frequentemente utilizados em Coleoptera entre os anos de 2019 e 2023.

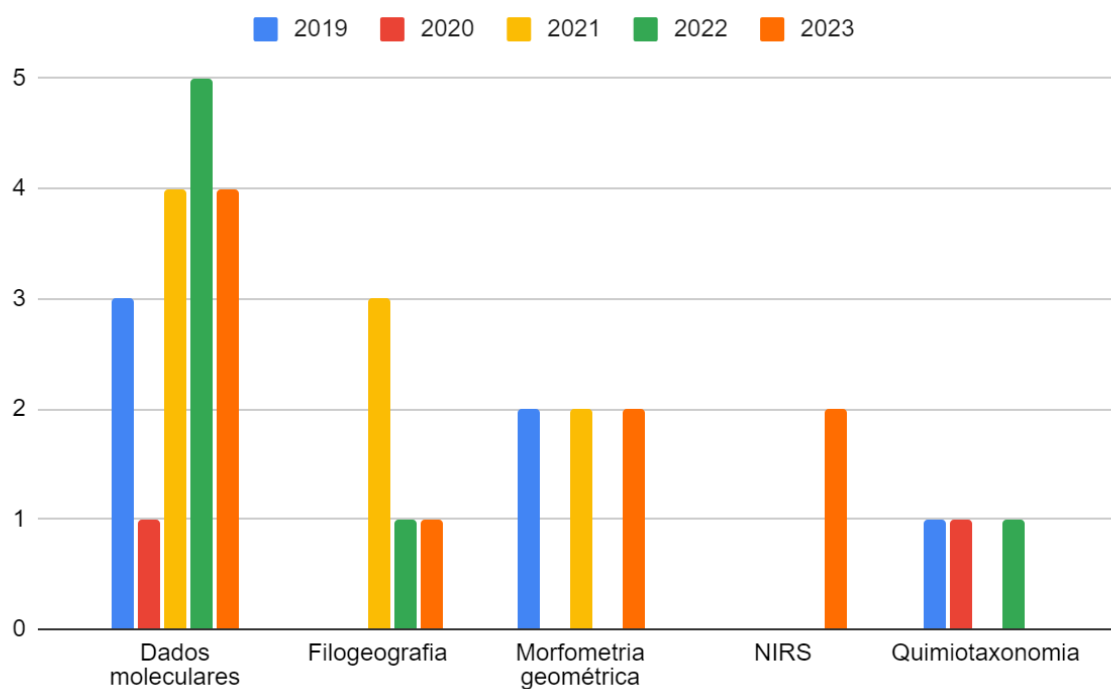


Figura 2. Proporção anual de estudos utilizando métodos de taxonomia integrativa em Coleoptera entre os anos de 2019 e 2023.

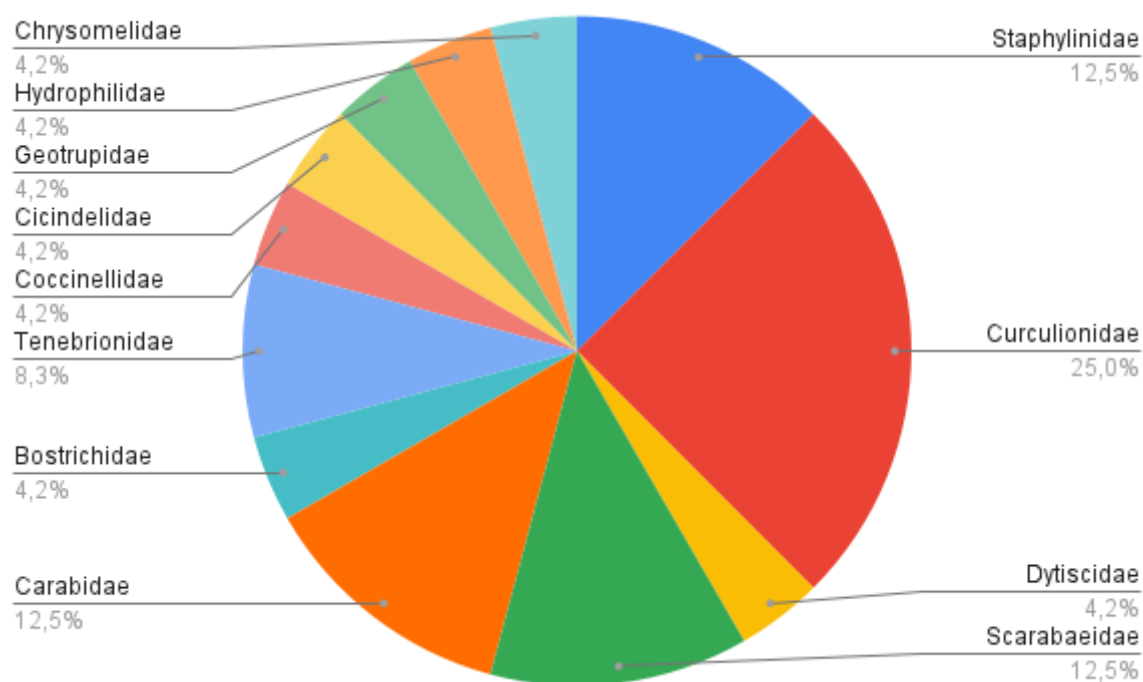


Figura 3. Famílias de Coleoptera mais pesquisadas na área de taxonomia integrativa entre os anos de 2019 e 2023, em porcentagem.

6 DISCUSSÃO

Este estudo investigou o uso dos diversos métodos de taxonomia integrativa na resolução de famílias de Coleoptera. Nossos resultados evidenciaram que entre as metodologias empregadas, aquelas que utilizam dados moleculares e morfológicos, são comumente utilizadas na definição de grupos desta ordem. Em 2005 a taxonomia integrativa foi apresentada como uma proposta alternativa ao uso isolado de métodos de identificação. A premissa central desta nova disciplina é conciliar metodologias diversas e intercambiar os resultados obtidos para aumentar a robustez das hipóteses taxonômicas.

O método clássico, utilizado há mais de 250 anos, permite identificar e documentar espécies com base na morfologia externa (Padial et al., 2010; Okiwelu; Noutcha, 2014). A consolidação secular deste método explica a quantidade excedente de trabalhos em relação à maioria. Equiparado a outros métodos, como o molecular, os caracteres morfológicos foram tão amplamente consultados nos artigos levantados quanto. Embora tenham um alto percentual de aplicação, as análises moleculares são técnicas inseridas de modo mais recente na história da taxonomia: datando a década de 1970, com o surgimento dos métodos de Sanger, de Maxam e Gilbert e com os primeiros sequenciamentos do Projeto Genoma Humano (Zolet, 2017; Sanger et al., 1977; Maxam; Gilbert, 1977).

A partir dos resultados, podemos verificar que algumas famílias de Coleoptera são frequentemente estudadas em detrimento de outras, devido ao alto grau de diversidade morfológica, como é o caso de Curculionidae. O estudo de Waclawik et. al., 2021, em que utilizaram uma combinação de técnicas moleculares e morfométricas, verifica a posição taxonômica e a validade das espécies do subgênero *Liophloeus* Weise, 1894 e *Liophloeus* Germar, 1817 (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae: Polydrusini). O subgênero em questão inclui cinco espécies crípticas, que foram descritas com base nos caracteres morfológicos do edeago (genitália masculina). Esta apresenta variações inter- e intraespecíficas e também são sobrepostas. As cinco espécies compartilham características ecológicas e geograficamente se distribuem sobretudo nas montanhas da Europa Central e Oriental. Dois marcadores ribossomais, 28S-D2 e ITS2, e um marcador mitocondrial, o COI, foram os métodos moleculares utilizados para estimar a diversidade genética e filogenética do subgênero. As filogenias suportadas pelos marcadores ribossomais corroboraram a delimitação já conhecida das espécies.

A filogenia mitocondrial, por sua vez, apontou para hibridização e introgressão entre as espécies de *Liophloeus*. Com a morfometria multivariada, foram avaliados caracteres

morfológicos diversos que permitiram a conclusão de baixo percentual na diversidade interespecífica. A diferença entre as espécies também têm sido fortalecida pela densa presença dos endossimbiontes bacterianos *Rickettsia* e *Wolbachia*, e a partir dessas informações hipóteses filogenéticas foram aventadas possibilitando uma nova série de evidências. Curculionidae desafia a sistemática por sua grande variação morfológica, e isto faz com que habitualmente os métodos taxonômicos adotados sejam os marcadores moleculares e os dados filogenômicos. Entretanto, o uso destes limitou-se às subfamílias e muitas tribos e gêneros continuam na posição de não resolvidos. Deste modo, a taxonomia integrativa, ao combinar métodos morfológicos e moleculares, tem contribuído com a superação dos déficits na sistemática da família dos gorgulhos (Curculionidae).

Da mesma forma, em Carabidae, os autores Zubrii e colaboradores (2022) e Zubrii e colaboradores (2023), utilizaram o gene Citocromo c oxidase (COI), a morfometria geométrica e a filogeografia para resolver e revisar problemas taxonômicos no subgênero *Cryobius* Chaudoir, 1838 (Coleoptera: Carabidae: *Pterostichus* Bonelli, 1810). No primeiro estudo, a história biogeográfica de *Pterostichus* (*Cryobius*) *mandibularoides* foi questionada devido à ocorrência de espécimes na Eurásia, onde ainda não haviam sido documentadas. A espécie era conhecida por sua ampla distribuição na América do Norte, e com uma parte disjuntiva na borda Nordeste da Ásia em Chukotka e na Ilha Wrangel. A análise molecular detectou oito haplótipos de COI nessas grandes faixas geográficas, e um haplótipo 28S rRNA foi encontrado na Eurásia. Com o auxílio da filogenia bayesiana, foi constatado um parentesco comum recente entre *P. mandibularoides* e as espécies irmãs *P. brevicornis* e *P. nivalis*. No segundo estudo, duas espécies crípticas ainda do subgênero *Cryobius* Chaudoir, 1838 foram sinonimizadas por métodos integrados: *Pterostichus* (*Cryobius*) *kolymensis* Erjomin, 1998 e *P. (C.) mandibularoides* Ball, 1966. Os dados da morfometria geométrica não mostraram diferenças significativas entre as formas do pronoto e do edeago. Entretanto, para os dados moleculares, os espécimes consultados pertencem a *P. (C.) mandibularoides* e a espécie tem origem trans-beríngia com dispersão pela América do Norte e norte da Eurásia. Assim, para Zubrii e colaboradores (2022), devido à complexidade morfológica das espécies crípticas de *Cryobius*, os espécimes de *P. kolymensis* devem ser identificados por intermédio de metodologias integradas aos dados moleculares. Foi com esta abordagem que foram confirmados novos dados a respeito da distribuição de *P. mandibularoides* no Paleártico.

Outra metodologia bastante empregada que verificamos em nosso estudo é a morfometria geométrica. Surgida nos anos 1960 e 1970, a morfometria baseava-se em uma série de análises estatísticas aplicadas na medição de distâncias lineares, tais quais largura,

comprimento e ângulo (Rohlf; Marcus, 1993). Porém, no início da década de 1990, esta metodologia passou por uma revolução (Rohlf; Marcus, 1993; Adams et al., 2004) ao ser aplicada para aferir e quantificar os dados morfológicos por meio de coordenadas geométricas cartesianas (Rohlf, 1990; Lawing; Polly, 2009). Este método foi integrado por Brunke e colaboradores (2019) para reconhecer espécies de besouros holárticos *Quedionuchus plagiatus* (Coleoptera: Staphylinidae), linhagem antes considerada um complexo de espécies. A morfometria do edeago trouxe evidências expressivas para a identificação e revisão deste grupo. Este método revelou sobreposição entre um agrupamento de 52 espécimes presentes do Paleártico Oriental e Neártico, enquanto os espécimes do Paleártico Ocidental formaram linhagens separadas e morfologicamente próximas dos agrupamentos do Paleártico Oriental, mas não mostraram-se sobrepostas. Não obstante os representantes das Montanhas Altai tenham formado grupos morfologicamente próximos com os do Paleártico Ocidental, apenas o único espécime que teve o genoma sequenciado formou clado com os do Paleártico Oriental. Além disso, a junção da taxonomia clássica permitiu aos autores levantar caracteres morfológicos distintos e validar as espécies *Q. armipes*, *Q. reitterianus*, *Q. yunnanensis* e *Q. caucasicus*. Os caracteres morfológicos, moleculares e filogenéticos validaram *Q. samuraicus*, *Q. deceptor*, *Q. gilaensis* e *Q. plagiatus*. Com as análises morfométricas foi possível observar um considerável grau de variação nos padrões de coloração, medidas do corpo, além do edeago. As linhagens revisadas foram realocadas em *Reitterianus* e *Samuraicus*, grupos morfologicamente bem definidos e fora da antiga nomenclatura *Q. plagiatus*.

Contudo, também observamos que outros métodos desta revisão ainda possuem baixa aplicabilidade. O NIRS é um destes, quando nos referimos aos grupos de Coleoptera. Este tem sido utilizado na taxonomia por aproximadamente duas décadas, sobretudo em outros agrupamentos de insetos, como Diptera e em pouquíssimas famílias de Coleoptera (Depickère et al., 2019; Johnson, 2020). Mayagaya e colaboradores (2009) usou a espectroscopia na região do visível (VIS) e do infravermelho próximo (NIR), ou Vis-NIRS, para distinguir as espécies crípticas *Anopheles gambiae* (Giles) e *Anopheles arabiensis* (Patton), normalmente identificadas por técnicas moleculares. A identificação teve uma precisão de aproximadamente 100% para os indivíduos mantidos em laboratório e 80% para as amostras coletadas em campo. O estudo de Fischnaller e colaboradores (2012) obteve resultados parecidos. Ao analisar feixes de luz entre 500 e 2.200 nm, foi possível identificar as espécies *Drosophila obscura* (Fallen) e *D. subobscura* (Collin) com uma precisão de 85% para os espécimes que também haviam sido coletados em campo.

O NIRS possui diversas vantagens na sua amplificação por ceder dados de aspectos morfológicos, genômicos e geográficos dos espécimes (Johnson, 2020). Entretanto, estes métodos integrativos possuem limitações, seja quanto a clareza em delimitação de espécies, discriminação de formas crípticas, ao tempo de duração das pesquisas ou a quantidade de investimento material (Pires; Marinoni, 2010; Waugh, 2007; Witt et al., 2006; Fischnaller et al., 2012).

Stüben & Schütte, 2021, também fizeram uso da abordagem integrativa para a descrição de duas novas espécies: *Acalles romani* Stüben & Schütte, 2021e. e *Echinodera philippeï* Stüben & Schütte, 2021a. Os autores investigaram ambas as espécies da família Curculionidae com ocorrência na Argélia e Marrocos, a fim de distingui-las de linhagens aparentadas. Na nova chave de identificação, as duas espécies estão relacionadas a *A. romani* e *E. philippeï*. A metodologia integrada, além de trazer novos caracteres morfológicos, apresentou as primeiras evidências moleculares com o DNA barcoding. Concluiu-se que, evolutivamente, os novos táxons estão mais próximos daqueles do Noroeste da África, Espanha, Itália e Península Ibérica. Os pesquisadores também relataram a insuficiência da descrição clássica por registrar de modo repetitivo e escasso os caracteres morfológicos de *E. philippeï* e de *A. sierrae*. As sequências de DNA que, tal como o COI, permitiram a construção de filogenias moleculares das novas espécies foram incluídas no GenBank, o que acredita-se que permitirá novos trabalhos taxonômicos.

Na tribo Sericini (Coleoptera: Scarabaeidae), Ranasinghe e colaboradores (2022) avaliaram o grau de precisão do método COI para delimitar múltiplas morfoespécies coletadas em campo no Sri Lanka. A metodologia contou com o Modelo de Processos de Árvore por Poisson (PTP), a Análise Estatística de Parcimônia (TCS), a Descoberta Automática de Lacunas de Código de Barras (ABGD), a Montagem de Espécies por Particionamento Automático (ASAP) e as Atribuições de Número de Índice de Código de Barras (BIN). O uso destes métodos resultou em diferentes quantidades de Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTUs), acrônimo do inglês *Molecular Operational Taxonomic Units*. Das 45 morfoespécies estudadas, 18 apresentaram congruência com as MOTUs geradas por todos os métodos. As espécies crípticas formaram grandes aglomerações. Para lidar com as incongruências na identificação e na delimitação das morfoespécies e das espécies geradas pelo COI, os autores integraram a macroecologia devido aos padrões de variabilidade genética intraespecífica relacionados à diversidade morfológica das populações. Os resultados levaram os pesquisadores a concluir que é improvável que o método COI isolado seja eficaz para o

estabelecimento correto dos limites de todas as espécies do grupo, sendo necessário uma abordagem integrada de delimitação, especialmente do modelo taxonômico clássico.

No complexo de espécies *Cafius bistratus* (Erichson) da família Staphylinidae, Yoo e colaboradores (2022) realizaram uma revisão sistemática com amostras coletadas ao longo do Pacífico Oriental e Oceano Atlântico, incluindo o Mar do Caribe. O trabalho consistiu em análises morfológicas e moleculares, através do COI e do 28S. As espécies *C. bistratus*, *C. rufifrons* Bierig e *C. sulcicollis* LeConte, por apresentarem similaridades na morfologia do edeago, são consideradas formas crípticas. Para a identificação destas espécies, foram avaliados os níveis de diversidade gênica e a monofilia das árvores filogenéticas. A microscopia eletrônica de varredura para caracteres micromorfológicos, o COI e o 28S em árvores de parcimônia e da máxima verossimilhança, validaram as três espécies e corroboraram uma única linhagem. Entretanto, as relações evolutivas não foram resolvidas pelos dados isolados oriundos do 28S. A resolução sistemática total da linhagem ocorreu pela junção dos dados do COI com os do 28S. O alinhamento dos resultados pela integração da morfologia com os dados moleculares permitiu a sinonimização de *Cafius bistratus fulgens* Frank em *C. bistratus*, pela forma do edeago e dos padrões da cabeça e do pronoto, e na redescritção da espécie *C. bistratus*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os métodos moleculares e morfométricos são mais comumente utilizados em relação ao uso integrado de outras metodologias para a pesquisa taxonômica em Coleoptera;
- O método NIRS, embora ainda seja incipiente em Coleoptera, têm apresentado resultados significativos em algumas famílias da ordem;
- Os artigos levantados contam com resultados significativos atinentes ao uso integrado de métodos na resolução de problemas taxonômicos em grupos de Coleoptera.

REFERÊNCIAS

ADAMS, D. C.; ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Ital J Zool*, 71: p. 5–16, 2004.

ALEGRIA, T.; CHEN, M.; ARNBRISTER, J.; WILLIAMSON, D.; LI, S.; NAIR, S.; BROPHY, M.; GARCIA, V. M.; WALKER, K.; ERNESTO, K.; et. al. Avaliação da espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) para avaliação da estrutura etária da população do *Aedes aegypti*. **Insetos**, 13, p. 360, 2022.

ALMEIDA, A. R.; MORAIS, W. J.; LANG, C.; SALES, D. C. Discrimination of termite species using Near-Infrared Spectroscopy (NIRS). **European Journal of Soil Biology**, 2019.

ARRIBAS, P.; ANDUJAR, C.; SÁNCHEZ-FERNANDEZ, D.; ABELLAN, P.; MILLAN, A. Integrative taxonomy and conservation of cryptic beetles in the Mediterranean region (Hydrophilidae). **Zoologica Scripta**, 2012.

AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18 (1), p. 489–522, 1987.

AVISE, J. C.; GIBLIN-DAVIDSON, C.; LAERM, J.; PATTON, J. C.; LANSMAN, R. A. Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. **Proc Natl Acad Sci USA**, 76, p. 6694–6698, 1979.

AVISE, J. C.; LANSMAN, R. A.; SHADE, R. O. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. I. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. **Genetics**, 92, p. 279–295, 1979.

BERRILLI, E.; BIONDI, M.; D’ALESSANDRO, P.; SALVI, D. Cryptic, sibling or neither of the two? Integrative species delimitation of *Psylliodes* flea beetles with overlapping ranges. **Zool Scr**, 52: p. 235–248, 2023.

BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; NG, P. K. L.; MEIER, R.; WINKER, K.; DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, 22 (3), p. 148–155, 2007.

BRITZ, R.; HUNDSDÖRFER, A.; FRITZ, U. Funding, training, permits — the three big challenges of taxonomy. **Megataxa**, Vol. 1, N°. 1, 31, 2020.

BRUNKE, A. J.; SALNITSKA, M.; HANSEN, A. K.; ZMUDZINSKA, A.; SMETANA, A.; BUFFAM, J.; SOLODOVNIKOV, A. Are subcortical rove beetles truly Holarctic? An

integrative taxonomic revision of north temperate *Quedionuchus* (Coleoptera: Staphylinidae: Staphylininae). **Organisms Diversity & Evolution**, 2019.

BUSSE, H.-J.; DENNER, E. B. M.; LUBITZ, W. Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. **Journal of Biotechnology**, 47 (1), p. 3–38, 1996.

CAF, F.; YILDIZ, G.; SEN ÖZDDEMİR, N.; MART, A. A chemotaxonomic approach to fatty acid composition of the genera *Helochares* Mulsant, 1844 and *Coelostoma* Brullé, 1835 (Coleoptera: Hydrophilidae). **Turkish Journal of Entomology**, 44 (3), p. 399-412, 2020.

CARVALHO F. L.; NOVAIS, W. R. R.; SOARES-SILVA, A. C.; FLORES, D. W. M.; MAGALHÃES, R. S. Toward new tools for biodiversity studies: the use of portable near-infrared spectroscopy combined with machine learning to identify species of Decapoda. **Marine and Freshwater Research**, 74, p. 511-521, 2023.

CASARI, S. A.; IDE, S. Coleoptera Linnaeus, 1758. In: RAFAEL, J. A.; MELLO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B. de; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. (Ed.). Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia. Ribeirão Preto: **Holos Editora**, p. 453-536, 2012.

CATZIM, V.; ELÍAS-GUTIÉRREZ, M.; PÉREZ-LACHAUD, G. Contribution to the lady beetle fauna of the Yucatan Peninsula and integrative taxonomy for species delimitation. **Systematics and Biodiversity**, 20: 1, p. 1-16, 2022.

CÍCERO, C., MASON, N.A.; JIMÉNEZ, R.A.; WAIT, D.R.; WANG-CLAYPOOL, C.Y.; BOWIE, R.C.K. Integrative taxonomy and geographic sampling underlie successful species delimitation. **Ornithology**, 138: p. 1–15, 2021.

CLARIDGE, M.F.; DAWAH, H.A; WILSON, M.R. Species: The Units of Biodiversity. **Chapman & Hall Ltd**, 1997.

COOKE, S. B.; TERHUNE, C. E. Form, Function, and Geometric Morphometrics. **The Anatomical Record**, 298 (1), p. 5–28, 2014.

COGNATO, A.I. Standard percent DNA sequence difference for insects does not predict species boundaries. **J. Econ. Entomol.**, 99: p. 1037-1045, 2006.

COSTA, C.; CARON, E.; MONNÉ, M.L. Coleoptera in **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD, 2024. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/223>>.

Acesso em: 10 mar. 2024

CRÉPON, K.; CABACOS, M.; BONDUELLE, F.; AMMARI, F.; FAURE, M.; MAUDEMAIN, S. Using Internet of Things (IoT), Near-Infrared Spectroscopy (NIRS), and Hyperspectral Imaging (HSI) to Enhance Monitoring and Detection of Grain Pests in Storage and Handling Operators. **Agriculture**, 13, 1355, 2023.

CRONQUIST, A. Once again, what is a species? In: Knutson L.V., editor. **Biosystematics in Agriculture**. Allenheld Osmin; Montclair, New Jersey, U.S.A, p. 3–20, 1978.

CRUZ-BARRAZA, J. A.; CARBALLO, J. L.; ROCHA-OLIVARES, A.; EHRLICH, H.; HOG, M. Integrative Taxonomy and Molecular Phylogeny of Genus *Aplysina* (Demospongiae: Verongida) from Mexican Pacific. **PLoS ONE**, 7 (8), e42049, 2012.

DEPICKÈRE, S.; RAVELO-GARCÍA, A. G.; LARDEUX, F. Chagas disease vectors identification using visible and near-infrared spectroscopy. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 103914, 2019.

DAYRAT, B. Toward integrative taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, 85, p. 407–415, 2005.

DURAN, D.P.; ROMAN, S.J. Description of a new halophilic tiger beetle in the genus *Eunota* (Coleoptera, Cicindelidae, Cicindelini) identified using morphology, phylogenetics and biogeography. **PLoS One**, 13; 16 (10): e0257108, 2021.

ELMEER K.; ALMALKI, A.; MOHRAN, K.A.; AL-QAHTANI, K.N.; ALMARRI, M. DNA barcoding of *Oryx leucoryx* using the mitochondrial cytochrome C oxidase gene. **Genet Mol Res**, 8; 11 (1): p. 539-47, 2012.

FIŠER, C.; ROBINSON, C. T.; MALARD, F. Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. **Molecular Ecology**, 27(3), p. 613–635, 2018.

FISCHNALLER, S.; DOWELL, F. E.; LUSSE, A.; SCHLICK-STEINER, B. C.; STEINER, F. M. Non-destructive species identification of *Drosophila obscura* and *D. subobscura* (Diptera) using near-infrared spectroscopy. **Fly**, 6, 284–289, 2012.

FRANÇOSO, E.; ZUNTINI, A.R.; CARNAVAL, A.C. Comparative phylogeography in the Atlantic forest and Brazilian savannas: pleistocene fluctuations and dispersal shape spatial patterns in two bumblebees. **BMC Evol Biol**, 16, 267, 2016.

FUJITA, M.K.; LEACHÉ, A.D.; BURBRINK, F.T; MCGUIRE, J.A.; MORITZ, C. Coalescent-based species delimitation in an integrative taxonomy. **Trends in Ecology & Evolution**, 27: p. 480–488, 2012.

GAYLORD, G. S. Principles of Animal Taxonomy. **Columbia University Press**, New York, 1961.

German National Academy of Sciences Leopoldina. Challenges and Opportunities of Integrative Taxonomy for Research and Society – Taxonomic Research in the Era of OMICS Technologies. **Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina e.V. Nationale Akademie der Wissenschaften (German National Academy of Sciences)**. Halle/Saale, p. 54, 2014.

GILLON, D.; DAVID, J.-F. The use of near infrared reflectance spectroscopy to study chemical changes in the leaf litter consumed by saprophagous invertebrates. **Soil Biology and Biochemistry**, 33 (15), p. 2159–2161, 2001.

GUERRERO, M.; VIDAL, G.-H. P.; ZÚÑIGA-REINOSO, A. Integrative taxonomy reveals a new genus from Central Chile and suggests a systematic rearrangement in Stenochiinae (Coleoptera: Tenebrionidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, Vol. 194 (3), p. 960–972, 2022.

GULLAN, P. J. Insetos: fundamentos da entomologia / GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. Com ilustrações de Karina H. McInnes; Tradução e Revisão Técnica Eduardo da Silva Alves dos Santos, Sonia Maria Marques Hoenen – 5. ed. – Rio de Janeiro: **Roca**, 2017.

HAO, D.-C.; JIE, X.; XIAO, P. G. Medicinal Plants ([edition unavailable]). **Elsevier Science**, 2015.

HERBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DE WAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 270 (1512), p. 313–321, 2003.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DE Waard, J. R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 270 (Suppl_1), S96–S99, 2003.

HOSKING, G. P.; KUTSCHA, N. P.; KNIGHT, F. B. Scanning Electron Microscopy of Insects: Techniques for the Novice. **Life sciences and agriculture experiment station**. University Of Maine at Toronto; Technical bulletin, 80; 1976.

HUPALO, K.; TEIXEIRA, M. A. L.; REWICZ, T.; SEZGIN, M.; IANNILLI, V.; KARAMAN, G. S.; COSTA, F. O. Persistence of phylogeographic footprints helps to understand cryptic diversity detected in two marine amphipods widespread in the Mediterranean basin. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 2018.

IRIONDO, J. M. Taxonomía y conservación: dos aproximaciones a un mismo dilema. **Portugaliae Acta Biol.**, 19: p. 1-7, 2000.

JOHNSON, J. B. Cuticular Hydrocarbon Profiling Reveals Chemotaxonomic Diversity among *Gonipterini* weevils (Coleoptera: Curculionidae). **Biol. Life Sci. Forum**, 15, 5, 2022.

JOHNSON, J. Near-infrared spectroscopy (NIRS) for taxonomic entomology: a brief review. **Journal of Applied Entomology**, 20203305190, Germany, Berlin, 144, (4), p. 241–250, 2020.

JOHNSON, J. B.; NAIKER, M. Mid-infrared spectroscopy for entomological purposes: a review. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 2020.

JOUQUET, P.; CAPOWIEZ, Y.; BOTTINELLI, N.; TRAORÉ, S. Potential of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for identifying termite species. **European Journal of Soil Biology**, 60, p. 49–52, 2014.

KNOWLES, L. L. Statistical Phylogeography. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 40 (1), p. 593–612, 2009.

KNOWLES, L. L.; CARSTENS, B. C. Estimating a geographically explicit model of population divergence. **Evolution**, 61 (3), p. 477–493, 2007.

KUNZ, W. Do Species Exist? Principles of Taxonomic Classification. **Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Boschstr. 12**, 69469 Weinheim, Germany, 2012.

LAY, J. MALDI-TOF mass spectrometry and bacterial taxonomy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 19 (8), p. 507–516, 2000.

LAWING, A. M.; POLLY, P. D. Geometric morphometrics: recent applications to the study of evolution and development. **Journal of Zoology**, 280 (1), p. 1–7, 2010.

LEE, M. S. Y. The molecularisation of taxonomy. **Invertebrate Systematics**, 18 (1), 1, 2004.

LECHEVALIER, M. P.; DE BIEVRE, C.; LECHEVALIER, H. Chemotaxonomy of aerobic Actinomycetes: Phospholipid composition. **Biochemical Systematics and Ecology**, 5 (4), p. 249–260, 1977

LECHEVALIER, M. P.; Moss, C. W. Lipids in bacterial taxonomy – a taxonomist’s view. **CRC Crit Rev Microbiol**, 5, p. 109–210, 1977.

LEMEY, P.; RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; SUCHARD, M. A. Bayesian Phylogeography Finds Its Roots. **PLoS Computational Biology**, 5 (9), e1000520, 2009.

LEWIS, J. H.; ANDERSON, R. S. A review of *Elleus* (Coleoptera: Curculionidae) in North America: new species and synonyms revealed through integrative taxonomy. **The Canadian Entomologist**, 155: e15, 2023.

LYAL, C., et al. The value of taxonomy to biodiversity and agriculture. **Biodiversity**, Vol. 9, N° 1-2, p. 8–13, 2008.

MACLEOD, N.; FOREY, P. L. (Eds.). Morphology, Shape and Phylogeny (1st ed.). **CRC Press.**, 2002.

MARCUS, L. F. Traditional morphometrics. In: ROHLF, F. J.; BOOKSTEIN, F. L. editors. **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop**. Ann Arbor: University of Michigan Museum of Zoology. p. 77–122, 1990.

MARTIN, L. C. Cladistic Taxonomy, Phylogenetic Systematics, and Evolutionary Ranking. **Systematic Biology**, Vol. 44, N° 3, p. 440–454, 1995.

MARTINEZ-GOSS, M. R.; RIVERA, W. L.; TORRETA, N. K. Methods in Microalgal Studies. **Philippine Science Letters**, University of the Philippines Los Baños, 2020.

MARTÍNEZ, O. G. L. La taxonomía integral y su importancia para la conservación. **Ciencia & Conservación**, 06: p. 54 — 64, 2015.

MAXAM, A. M.; GILBERT, W. A. new method for sequencing DNA. **Proc Natl Acad Sci USA**, 74 (2): p. 560-4, 1977.

MAYAGAYA, V. S.; MICHEL, K., BENEDICT, M. Q.; KILLEEN, G. F.; WIRTZ, R. A.; FERGUSON, H. M.; DOWELL, F. E. Non-destructive determination of age and species of *Anopheles gambiae* sl using near-infrared spectroscopy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 81, p. 622–630, 2009.

MAYR, E. Systematics and the Origin of Species. **Columbia University Press**, New York, 1942.

MESBAH, M.; PREMACHANDRAN, U.; WHITMAN, W. B. Precise Measurement of the G+C Content of Deoxyribonucleic Acid by High-Performance Liquid Chromatography. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 39 (2), p. 159–167, 1989.

MINELLI, A. Biological Systematics: The State of the Art. [s.l.] **Springer**, 1993.

MORET, P.; MURIENNE, J. Integrative taxonomy of the genus *Dyscolus* (Coleoptera, Carabidae, Platynini) in Ecuadorian Andes. **European Journal of Taxonomy**, 2020.

NARENDRAN, T. C. Importance of Systematics. **Resonance**, S: 60-68, 2000.

NEUMANN, D.; BORISENKO, A. V.; CODDINGTON, J. A.; HÄUSER, C. L.; BUTLER, C. R.; CASINO, A.; VOGEL, J. C.; HASZPRUNAR, G.; GIERE, P. Global biodiversity research tied up by juridical interpretations of access and benefit sharing. **Organisms, Diversity & Evolution**, 18, p. 1–18, 2018.

NIOGRET, J.; FELIX, A. E.; NICOT, A.; LUMARET, J. P. Chemosystematics Using Cuticular Compounds: A Powerful Tool to Separate Species in Mediterranean Dung Beetles (Coleoptera: Geotrupidae). **Journal of Insect Science**, Vol. 19, 2, 2019.

NIXON, K. C.; Wheeler, Q. D. An amplification of the phylogenetic species concept. **Cladistics**, 6, p. 211-23, 1990.

NORIEGA, J.; et al. ¿Cuál es el alcance de la crisis de la Taxonomía? Conflictos, retos y estrategias para la construcción de una Taxonomía renovada. **Revista Ibero Diversidad Entomológica (IDE - SEA)**, N° 9, p. 1–16., 30, 2015.

OSPINA-ROZO, L.; NIKEN, P.; JAMES, A. H.; ALLISON, V. M.; NICHOLAS, W. R.; DEVI, S.; ANN, R. Deconstructed beetles: Bilayered composite materials produce green coloration with remarkably high near-infrared reflectance. **Materials Today Advances**, Vol. 18, 2023.

OKIWELU, S. N.; NOUTCHA, M. A. E. The Evolution of Integrative Insect Systematics. **Annual Research & Review in Biology**, Vol 4, N° 14, 2302-2317, 2014.

OSWALD, C. B. (org.), et. al. Principípios de Sistemática Zoológica. 1a ed., Belo Horizonte: **PGZoo UFMG**, 2020.

PADIAN, K.; HUTCHINSON, J. R.; HOLTZ, T. R. JR. Phylogenetic definitions and nomenclature of the major taxonomic categories of the carnivorous Dinosauria (Theropoda). **Journal of Vertebrate Paleontology**, 19 (1): p. 69-80, 1999.

PARDO-DIAZ, C.; LOPERA, T. A.; PENA TOVAR, S. A.; SARMIENTO-GARCÉS, R.; SANCHEZ HERRERA, M.; SALAZAR, C. Taxonomic reassessment of the genus *Dichotomius* (Coleoptera: Scarabaeinae) through integrative taxonomy. **PeerJ**, 7:e7332, 2019.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 14 (2), p. 198–219, 2003.

PAVLINOV, I. Y. Biological Systematics. 1a ed., **CRC Press**, 2021.

PIRES, A. C.; MARINONI, L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. **Biota Neotrop.** Vol 10, N° 2, 2010.

PRZYBYCIEŃ, M.; LACHOWSKA-CIERLIK, D.; WACLAWIK, B.; SPRICK, P.; KNUTELSKI, S. The species status of the *Otiorhynchus clavipes* (Bonsdorff, 1785) species group (Coleoptera: Curculionidae): an integrative approach using molecular, morphological, ecological, and biogeographical data. – **Bonn zoological Bulletin**, 70 (1): p. 115–139, 2021a.

RANASINGHE, U. G. S. L.; EBERLE, J.; THORMANN, J.; BOHACZ, C.; BENJAMIN, S. P.; AHRENS, D. Multiple species delimitation approaches with COI barcodes poorly fit each other and morphospecies - An integrative taxonomy case of Sri Lankan Sericini chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). **Ecol Evol.**, 19; 12 (5): e8942, 2022.

REYMENT, R. A. Multivariate morphometrics. **Classification Pattern Recognition and Reduction of Dimensionality**, p. 721–745, 1982.

RIUS, M.; TURON, X. Phylogeography and the Description of Geographic Patterns in Invasion Genomics. **Frontiers in Ecology and Evolution**, 8, 2020.

ROCHA, L. A.; BERNAL, M. A.; GAITHER, M. R.; ALFARO, M. E. Massively parallel DNA sequencing: the new frontier in biogeography. **Frontiers of Biogeography**, 5 (1), 2013.

RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, J. I.; DE CARVALHO, C. J. B.; PASQUINI, C.; DE LIMA, K. M. G.; MOURA, M. O.; ARÍZAGA, G. G. C. Barcoding without DNA? Species identification using near infrared spectroscopy. **Zootaxa**, 2933 (1), 46, 2011.

ROHLF, F. J. Rotational fit (Procrustes) methods. In: ROHLF, F. J.; BOOKSTEIN, F. L. editors. **Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop**. Ann Arbor: University of Michigan Museum of Zoology. p. 227–236, 1990.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. A revolution in morphometrics. **Trends Ecol Evol**, 8: p. 129–132, 1993.

RŮŽIČKA, J.; JAKUBEC, P.; MAHLEROVÁ, K.; et al. Integrative taxonomy and species distribution models of the genus *Diamesus* Hope, 1840 (Coleoptera: Staphylinidae: Silphinae). **Sci Rep**, 13, 3192, 2023.

SANDALL, E. L. A globally integrated structure of taxonomy to support biodiversity science and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, 2023.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc Natl Acad Sci USA**, 74 (12): p. 5463-7, 1977.

SANGSTER, G. 2014. The application of species criteria in avian taxonomy and its implications for the debate over species concepts. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, 89: p. 199–214, 2014.

SAVOLAINEN, V.; COWAN, R. S.; VOGLER, A. P.; RODERICK, G. K. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. **Philos Trans R Soc B**, 360: p. 1805–11, 2005.

SCHNEIDER, K.-H.; SEIDL, P. H. Chemical composition and structure of murein. In GOODFELLOW, M.; D. E. MINNIKIN, D. E. editors. **Chemical Methods in Bacterial Systematics**. UK: Academic Press London, p. 201–219, 1985.

SIMPSON, G. G. The species concept. **Evolution**, 5: p. 285–298, 1951.

SHETH, S. D.; GHATE, H. V.; DAHANUKAR, N.; HÁJEK, J. Integrative taxonomic review of the genus *Peschetius* (Coleoptera, Dytiscidae, Hydroporinae) from India with description of two new species. **Arthropod Systematics & Phylogeny**, 79: p. 535-553, 2021.

STRUCK, T. H.; CERCA, J. Cryptic Species and Their Evolutionary Significance. **eLS**, p. 1–9, 2019.

STÜBEN, P. E.; SCHÜTTE, A. An integrative taxonomic classification and description of two new Cryptorhynchinae from Northwest Africa (Coleoptera: Curculionidae). **Revue suisse de Zoologie**, Vol 128, N° 1, p. 93-105, 2021.

SUKUMARAN, S.; GOPALAKRISHNAN, A. Integrative taxonomy – Methods and Applications. **Central Marine Fisheries Research Institute**, Kochi-682 018, 2015.

TAHSEEN, J. Taxonomy-The Crucial yet Misunderstood and Disregarded Tool for Studying Biodiversity. **Biodivers Endanger Species**, 2:3, 2014.

- TEMPLETON, A. R. In and out of breeding problems. **Conserv. Biol.**, 8: p. 608–610, 1994.
- THOMSON, S. A.; Taxonomy based on science is necessary for global conservation. **PLoS Biol.**, 14; 16 (3): e2005075, 2018.
- VANE-WRIGHT, R. I. Taxonomy, Methods of. **Encyclopedia of Biodiversity**, Vol. 7, 2013.
- VAN VALEN, L. Ecological Species, Multispecies, and Oaks. **Taxon.**, 25: p. 233–239, 1976.
- VIEIRA, P. E.; DESIDERATO, A.; HOLDICH, D. M.; SOARES, P.; CREER, S.; CARVALHO, G. R.; COSTA, O. F.; QUEIROGA, H. Deep segregation in the open ocean: Macaronesia as an evolutionary hotspot for low dispersal marine invertebrates. **Molecular Ecology**, 2019.
- WACLAWIK, B.; NUGNES, F.; BERNARDO, U.; GEBIOLA, M.; PRZYBYCIEŃ, M.; LACHOWSKA-CIERLIK, D. An integrative revision of the subgenus *Liophloeodes* (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae: Polydrusini): taxonomic, systematic, biogeographic and evolutionary insights. **Arthropod Systematics & Phylogeny**, 79: p. 419–441, 2021.
- WÄGELE, J. W. Foundations of Phylogenetic Systematics. **Verlag Dr. Friedrich Pfeil**, München, 2005.
- WANG, Y.; NANSEN, C.; ZHANG, Y. Integrative insect taxonomy based on morphology, mitochondrial DNA, and hyperspectral reflectance profiling. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 177 (2), p. 378–394, 2015.
- WAUGH, J. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. **BioEssays**, 29 (2), p. 188–197, 2007.
- WILEY, E. O. Remarks on Willis' species concept. **Syst. Zool.**, 30: p. 86–87, 1981.
- WILLIAMS, D. M.; EBACH, M. C. Foundations of Systematics and Biogeography. **Springer Science and Business Media**, LLC., 233. Spring Street, New York, NY10013, USA, 2008.
- WILKINS, J. S. Species, a history of the idea. **Species and Systematics**, Vol. 1. University of California Press, Ltd. London, England, 2009.

WITT, J. D. S.; THRELOFF, D. L.; Hebert, P. D. N. DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. **Molecular Ecology**, 15 (10), p. 3073–3082, 2006.

YOO, I.-S.; FRANK, J. H.; JUNG, J.-K.; AHN, K.-J. Integrative taxonomy of coastal *Cafius bistratus* (Erichson) species complex (Coleoptera, Staphylinidae). **ZooKeys**, 1100: p. 57-70, 2022.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D.; FINK, W. L. Geometric morphometric for biologists: a primer. London: **Elsevier Academic Press**, 2004.

ZOLET, A. C. T.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G.; (organizadores). Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações.– Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, p. 181, 2017.

ZUBRII, N. A.; FILIPPOV, B. Y.; KONDAKOV, A. V.; KHRULEVA, O. A.; RYBALOV, L. B. Integrative taxonomy of two morphologically similar species of the subgenus *Cryobius* Chaudoir, 1838 (Coleoptera: Carabidae: Pterostichus Bonelli, 1810) from northern Eurasia and North America. **Ecologica Montenegrina**, 61, p. 8–15, 2023

ZUBRII, N. A.; FILIPPOV, B. Y.; KHRULEVA, O. A.; KONDAKOV, A. V.; RYBALOV, L. B. Nearctic Species in the Palearctic: Trans-Beringian Range, Phylogeny and Phylogeography of *Pterostichus* (*Cryobius*) *mandibularoides* (Coleoptera, Carabidae). **Diversity**, 14, 415, 2022.