



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

JOANA DARC ARAUJO MESQUITA

**AVANÇOS EM TAXONOMIA DE INSETOS: DA METODOLOGIA TRADICIONAL À
INTEGRATIVA**

**FORTALEZA
2023**

JOANA DARC ARAUJO MESQUITA

AVANÇOS EM TAXONOMIA DE INSETOS: DA METODOLOGIA TRADICIONAL À
INTEGRATIVA

Monografia apresentada ao Programa de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Niedja Goyanna Gomes Gonçalves.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M544a Mesquita, Joana Darc Araújo.

Avanços em taxonomia de insetos : da metodologia tradicional à integrativa / Joana Darc Araújo Mesquita. – 2023.

35 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Niedja Goyanna Gomes Gonçalves.

1. Entomologia. 2. Ensino-aprendizagem. 3. DNA barcodes. 4. Inteligência artificial. I. Título.

CDD 630

JOANA DARC ARAUJO MESQUITA

AVANÇOS EM TAXONOMIA DE INSETOS: DA METODOLOGIA TRADICIONAL À
INTEGRATIVA

Monografia apresentada ao Programa de
Graduação em Agronomia da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Aprovada em: 03/07/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Niedja Goyanna Gomes Gonçalves (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Antonio Cesar Silva Lima
Universidade Federal de Roraima (UFRR)

Prof^a. Dr^a. Érica Costa Calvet
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Joana de 15 anos atrás.

AGRADECIMENTOS

Antes de qualquer outra coisa, eu quero agradecer à Joana Darc Araujo Mesquita. Obrigada por não desistir mesmo quando tudo parecia inalcançável. Obrigada por acordar naquele dia em 2016 e decidir seguir em frente. Obrigada por continuar existindo neste mundo.

Meus agradecimentos imensuráveis à minha orientadora, Prof. Niedja, que me ajudou por todos esses anos na Universidade, que me ensinou a usar minha voz e me inspirou a encarar as coisas de frente mesmo quando eu estava assustada. Obrigada por confiar em mim, mesmo quando eu mesma não confiava.

Aos meus amigos e as melhores pessoas que eu poderia ter conhecido durante esta jornada. Mylenna, minha querida parceira de cinema, de surtos e dramas. Marcos, a pessoa sempre disposta a ouvir qualquer loucura da minha cabeça, sempre sorrindo e nunca julgando. À Joana Nogueira, minha “xará”, que me ajudou inúmeras vezes e me aconselhou e me ouviu.

À minha melhor amiga e irmã de escolha, Girlane Martins, que teve que aguentar todos os meus surtos e todos os meus momentos de altos e baixos. Que permanece comigo a quase 20 anos mesmo com minha personalidade difícil.

À minha maior fonte de alegria e meu principal apoio emocional, Anneliese.

E, principalmente, à minha família. Minha mãe, a única pessoa que acreditou em mim por tantos anos, que me deu força, que me inspira todos os dias como pessoa e que foi sempre a primeira pessoa a me estender a mão. Ao meu pai, que me apoiou em silêncio, que enfrentou chuva e sol sem nunca reclamar e que não me deixou desistir. À minha irmã que foi a razão de eu conseguir me reerguer. Ela não sabe disso e não acredita nisso, mas ela sempre foi mais forte do que eu e, por isso, eu estou eternamente agradecida a ela.

RESUMO

Taxonomia é uma área da biologia que visa identificar, descrever e nomear espécies. Nos últimos 20 anos, os avanços nos métodos de taxonomia foram, então, embasados no desenvolvimento da biotecnologia e aprimoramento da Inteligência Artificial. Neste trabalho foi realizada uma revisão literária narrativa a partir de um levantamento qualitativo, em banco de dados da CAPES, PubMed e Google Scholar, sobre as novas metodologias utilizadas na taxonomia e sistemática, bem como os avanços daquelas já existentes. Há uma grande discrepância de opiniões entre os autores sobre a necessidade de se ensinar e aprender taxonomia baseada, unicamente, na morfologia externa dos insetos posto que os novos métodos são mais rápidos e menos desgastantes para o pesquisador. Tendo em vista que outros estudos mais recentes concluem que métodos integrativos são fundamentais para a taxonomia moderna, o presente estudo considera importante a utilização dos atuais avanços tecnológicos na área como ferramentas auxiliares de estudo, especificamente a Inteligência Artificial, contribuindo para a criação de bancos de dados de imagens de alta resolução em diferentes instituições de ensino, para que possam ser aplicados no estudo morfológico de insetos, mesmo sem a presença de espécimes em sala de aula.

Palavras-chave: entomologia; ensino-aprendizagem; DNA barcodes; inteligência artificial

ABSTRACT

Taxonomy is a field of biology that aims to identify, describe and name species. In the last 20 years, advances in taxonomy methods were based on the development of biotechnology and the improvement of Artificial Intelligence. In this work, a narrative review was carried out based on a qualitative survey, in the CAPES, PubMed and Google Scholar databases, on the new methodologies used in taxonomy and systematics, as well as the subsequent advances of the ones that already exist. There is a great discrepancy of opinion among authors about the need to teach and learn taxonomy based exclusively on the external morphology of insects, since the new methods are faster and less stressful for the researcher. Bearing in mind that more recent studies conclude that integrative methods are fundamental for modern taxonomy, the present study considers important the use of current technological advances in the area as auxiliary study tools, specifically Artificial Intelligence, inspired by the creation of databases of high resolution image data in different educational institutions, so that they can be applied in the morphological study of insects, even without the presence of species in the classroom.

Keywords: entomology; teaching-learning; DNA barcodes; artificial intelligence

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 METODOLOGIA DA PESQUISA	12
3 REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 Taxonomia tradicional	13
3.1.1 A história da taxonomia tradicional	13
3.1.2 Técnicas tradicionais e avanços tecnológicos na taxonomia baseada em morfologia	16
3.2 Taxonomia integrativa	21
3.2.1 DNA Barcodes	25
3.2.2 Inteligência Artificial (IA) como ferramenta de auxílio	27
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Os insetos representam o grupo de organismos mais diversos, totalizando metade das espécies do planeta (COSTELLO; MAY; STORK, 2013). Stork (2018) estima que existam 5,5 milhões de espécies e, de acordo com o Catalogue of Life¹, quase um milhão delas já foram descritas até a data deste trabalho.

Valdecasas, Williams e Wheeler (2008) definem a taxonomia como o ato de descobrir, descrever, nomear e identificar espécies. Assim, os taxonomistas fornecem um sistema padronizado que facilita a comunicação e a colaboração entre eles.

O conceito de um nome científico único a cada espécie permite uma referência atribuída, possibilitando que os pesquisadores compartilhem conhecimento e desenvolvam descobertas anteriores, uma vez que a taxonomia de um grupo de organismos não reside em uma única publicação ou em uma única instituição, mas é definida a partir da literatura acumulada (GODFRAY, 2002).

Considerando que sistemática é a ciência que estuda as relações evolutivas entre diferentes grupos de organismos, Quicke (1993) diz que a taxonomia fornece uma base para entender a evolução dos insetos, pois é uma área essencial dentro da sistemática.

A taxonomia baseada apenas em morfologia, tem limitações, tais como convergência evolutiva – caráter semelhante entre duas espécies que não estava presente em seu ancestral comum² –, polimorfismo fenótipo – organismos iguais que mantêm características morfológicas distintas³ – e espécies crípticas – espécies distintas, porém morfológicamente iguais⁴ –, fazendo com que taxonomia baseada em morfologia se torne informação de segunda categoria para alguns sistematas (FRIEDRICH *et al.*, 2013).

No final do século XX aconteceram avanços notáveis na taxonomia de insetos. A ascensão da biologia molecular, na segunda metade do século, forneceu

¹ BÁNKI, O et al. Catalogue of Life (Annual Checklist 2023). Catalogue of Life. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.48580/dfs>

² RIDLEY, Mark. Evolução. Artmed Editora, p. 702, 2009.

³ ANDRADE, P. Polimorfismos em populações naturais de animais. Revista de Ciência Elementar, v. 10, n. 2, 2022.

⁴ KLEIN, A. L; FERREIRA, C. M. Espécies. Genética na Escola, v. 7, n. 2, p. 34–41, 2012.

novas ferramentas para os taxonomistas que passaram a substituir os métodos taxonômicos utilizados nos séculos anteriores (WILSON, 2003). Estas técnicas de sequenciamento e análise de DNA, além de constituir uma base de dados de taxonomia, tornaram-se, também, um recurso inestimável para a filogenética (TAUTZ *et al.*, 2003).

A taxonomia atual, na prática, deve combinar várias técnicas (DAYRAT, 2005). Embora alguns métodos de taxonomia integrativa quantitativa ainda sejam considerados limitados (YEATES *et al.*, 2011), essa abordagem integrativa, deve combinar dados morfológicos, moleculares e ecológicos. Isso se faz necessário, uma vez que perspectivas múltiplas e complementares são indispensáveis para o estudo da diversidade entre espécies (DAYRAT, 2005). Ou seja, ao considerar várias linhas de evidência, os pesquisadores podem aumentar a confiabilidade da classificação de insetos.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre os avanços da metodologia em taxonomia de insetos, partindo do conceito de taxonomia baseada em morfologia, que aqui foi definido como taxonomia tradicional, até a taxonomia moderna integrativa.

2 METODOLOGIA DA PESQUISA

Para a realização desta revisão narrativa foi utilizada a literatura sobre taxonomia e avanços nas metodologias dos últimos anos. Para isso decidiu-se por selecionar materiais de modo qualitativo, datados desde 2003 até 2023, totalizando um período de 20 anos. Tal período foi escolhido considerando-se a introdução de DNA barcodes na taxonomia de insetos (HEBERT *et al.*, 2003) e o início da taxonomia integrativa (DAYRAT, 2005).

Foram selecionados artigos científicos, capítulos de livros, monografias e teses levantados nos portais CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), PubMed/MEDLINE e Google Scholar. Os descritores foram decididos a partir de leitura prévia sobre o tema, sendo definido: “métodos taxonômicos”, “DNA barcodes”, “morfologia de insetos”, “taxonomia molecular”, “taxonomia integrativa” e “filogenia de insetos”. As palavras-chave utilizadas para a busca estavam em língua portuguesa ou inglesa a depender da base de dados utilizada na pesquisa, visando ampliar o retorno de resultados.

A seleção dos trabalhos foi feita manualmente, inicialmente a partir dos títulos contendo palavras-chave supracitadas. Os escolhidos nesta etapa foram visualizados e aqueles que não estavam disponíveis ao público foram excluídos.

Posteriormente, procedeu-se à leitura dos diversos trabalhos previamente eleitos, eliminando-se os que não se enquadraram dentro dos critérios desejados por se tratarem daqueles em que apenas se aplicavam o método de classificação ou reclassificação de espécies utilizando as ditas tecnologias.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Taxonomia tradicional

A taxonomia é uma ciência dedicada à classificação e descrição dos seres vivos, considerada tão antiga quanto a linguagem humana (MANKTELOW, 2010). Além de agrupar os organismos em categorias hierárquicas, ela também envolve a atribuição de nomes científicos às espécies seguindo as regras do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN - *International Commission on Zoological Nomenclature*).

A chamada abordagem "tradicional" é a primeira exibição histórica da taxonomia, fundamentada em princípios estabelecidos a partir da necessidade de se reconhecer, por exemplo, plantas comestíveis e animais venenosos e então transmitir essa informação a outros. A divisão desses organismos em grupos era realizada com base no seu formato, tamanho e cor, estruturando uma técnica utilizada até hoje.

3.1.1 A história da taxonomia tradicional

A taxonomia de insetos possui uma longa e rica história, moldada pelas contribuições de inúmeros pesquisadores taxonomistas, tanto profissionais quanto amadores (AUDISIO, 2017), acrescentando-se, ainda, os avanços nas metodologias científicas. As raízes da taxonomia no Ocidente remontam à Grécia antiga, onde os primeiros naturalistas fizeram observações e descreveram organismos em grupos utilizados até os dias atuais (MANKTELOW, 2010).

Os primeiros registros taxonômicos ocidentais datam do período aristotélico, em que era defendido a necessidade da observação de um objeto antes de se formar uma concepção sobre eles, Isto é, Aristóteles defendia uma visão essencialista, ou seja, a ideia de que seres vivos possuem uma essência inerente e características essenciais que os definem, enfatizando que cada coisa tem uma natureza central e imutável que a distingue independentemente das variações (como tamanho e cores) ou diferenças superficiais que possam existir.

Segundo ⁵Hull (1965) citado por Winsor (2003):

Aristóteles considera o termo a ser definido como o nome da essência do objeto e a fórmula definidora como a descrição da essência. E ele insiste que a fórmula definidora deve fornecer uma descrição exaustiva da essência ou das propriedades essenciais do objeto em questão. (traduzido pela autora).

Durante esse período, também chamado período pré-lineano, um organismo tinha seu nome atribuído com base na sua descrição e características definidoras criando, por exemplo, divisões entre animais com sangue (vertebrados) e animais sem sangue (invertebrados), formando grupos dentro dessas duas categorias.

Até o século XIX, inúmeros taxonomistas realizaram classificações zoológicas e botânicas utilizando características morfológicas explícitas, porém, conseqüentemente, a literatura tornou-se extremamente desorganizada em razão de sinônimos e classificações baseadas em diferentes características. Diante disso, apenas no final do século a nomenclatura foi padronizada com as contribuições de Carl Linnaeus, um botânico, zoólogo e médico considerado até hoje como o “pai da taxonomia”.

Linnaeus desenvolveu o sistema de nomenclatura binomial (LINNAEUS, 1758) que atribui a cada espécie um nome científico único de duas partes, gênero e espécie. Seu trabalho forneceu uma estrutura padronizada para classificar organismos e deu início à taxonomia moderna, entrando em vigor em 1901, no 5º Congresso Internacional de Zoologia realizado em Berlin. Porém, apesar de ser amplamente utilizada, a nomenclatura binominal ainda é considerada instável por alguns taxonomistas (TAUTZ *et al.*, 2003), principalmente com a chegada da classificação molecular na segunda metade do século XX.

O sequenciamento de DNA na identificação e classificação de insetos, principalmente, a partir da introdução do conceito de DNA barcodes, proposto por Hebert *et al.* (2003), trouxe uma abordagem padronizada e sistemática para a taxonomia, fornecendo um gene específico (COI) e uma metodologia mais uniforme para a identificação e delimitação de espécies. Esse novo método de classificação,

⁵ HULL, D.L. The Effect of Essentialism on Taxonomy – Two Thousand Years of Stasis. British Journal of the Philosophy of Science.1965.

além de expor a necessidade de se estabelecer um novo sistema de nomenclatura (TAUTZ *et al.*, 2003), também foi considerado por alguns taxonomistas tradicionais, em primeiro momento, como um “impedimento” para a taxonomia tradicional por ser mais “lucrativo” (LÖBL; LESCHEN, 2005).

Muitos autores citam o termo “*taxonomic impediment*” (Impedimento taxonômico), para descrever os desafios e obstáculos enfrentados pelos cientistas e pesquisadores que trabalham na área da taxonomia. Alguns desses impedimentos apontados atualmente como responsáveis pela queda da quantidade de taxonomistas especializados, de acordo com a literatura, são: o baixo fator de impacto (FI), relacionados a revistas científicas sobre taxonomia e sistemática (KRELL, 2000); os avanços da tecnologia, principalmente baseados na taxonomia molecular (AUDISIO, 2017); a carência de recursos financeiros para projetos de pesquisa (LÖBL; LESCHEN, 2005) e o declínio na biomassa de insetos (MONTGOMERY *et al.*, 2020).

No momento presente, com o desenvolvimento de novas metodologias dentro da taxonomia e a melhora de leis ambientais e de proteção em diversos países, a dificuldade de acesso a materiais de estudo tornou-se mais um empecilho. Audisio (2017) acredita que um dos principais impedimentos, hoje, é o aumento na burocracia relacionada às permissões para pesquisa de campo, em particular, relacionado ao Protocolo de Nagoya. Esse Protocolo é um acordo internacional que visa promover o acesso justo e o compartilhamento dos benefícios derivados da utilização dos recursos genéticos e dos conhecimentos tradicionais associados, tendo como objetivo geral garantir que a sua utilização seja realizada de forma ética e justa. Ou melhor:

O objetivo deste Protocolo é a repartição justa e equitativa dos benefícios decorrentes da utilização dos recursos genéticos, inclusive pelo acesso adequado aos recursos genéticos e pela transferência adequada de tecnologias relevantes, levando em consideração todos os direitos sobre esses recursos e tecnologias, e mediante financiamento adequado, contribuindo assim para a conservação da diversidade biológica e o uso sustentável de seus componentes. (CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2010. Traduzido pela autora.)

3.1.2 Técnicas tradicionais e avanços tecnológicos na taxonomia baseada em morfologia

A taxonomia baseada na morfologia se concentra nas características físicas dos insetos, como formato do corpo, tamanho, coloração etc. O exame para a classificação dos espécimes é feito com a utilização de microscópios, lupas e chaves taxonômicas especializadas, tornando-se um método amplamente vantajoso pois requer apenas a inspeção visual, podendo ser aplicada a espécimes vivos, preservados e fossilizados (PADIAL *et al.*, 2010). Isso permite que pesquisadores em diferentes regiões do mundo e com recursos limitados realizem estudos taxonômicos.

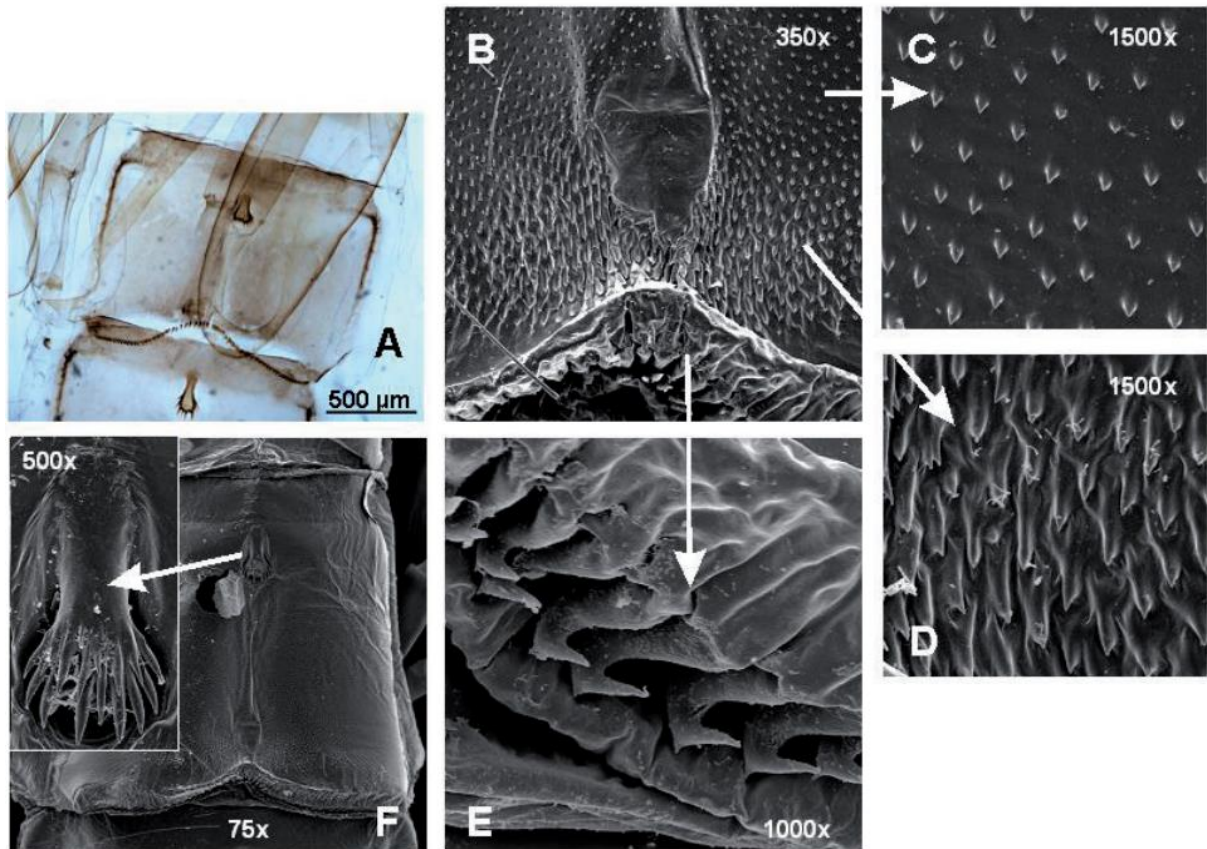
Para a realização dessa metodologia é requerido algumas técnicas consideradas básicas e, ainda assim, essenciais para o estudo morfológico dos insetos. A técnica mais tradicional é a fixação. O procedimento ocorre de maneira simples: o inseto é morto, alfinetado, seco e etiquetado. Esse método é utilizado para facilitar o armazenamento de espécimes que podem ser classificados visualmente mesmo após anos conservados em caixas entomológicas. Hoje, com o surgimento da classificação molecular, sabe-se que esses exemplares em conserva podem também servir para a extração de DNA (GILBERT *et al.*, 2007), o que permite o uso de uma outra forma de metodologia.

A conserva de insetos, também, pode ser feita através da submersão do exemplar em álcool a 70%. Essa técnica é aplicada, principalmente, na conservação de espécimes em estágio larval e mediante situações em que a fixação por alfinete é impossível (insetos muito pequenos, por exemplo). Espécimes conservados em álcool podem ser usados, posteriormente, para a realização de dissecação e o estudo de estruturas internas.

Uma vez que a taxonomia tradicional se concentra apenas na análise de características morfológicas externas e internas, sejam elas qualitativas ou quantitativas, muitas vezes o exame macroscópico não é suficiente, exigindo uma observação mais detalhada. Com base nisso, além de microscópios ópticos, o sistema de microscopia eletrônica de varredura (MEV) vem sendo utilizado como ferramenta de auxílio para classificação de organismos desde os anos 70 (KOWNACKI; SZAREK-GWIAZDA; WOŹNICKA, 2015), tornando-se indispensável para descrição de insetos que possuem características distintas muito pequenas (Figura 1). Outra forma de

microscopia eletrônica empregada é a de transmissão, porém ela é menos utilizada pela dificuldade na preparação da amostra.

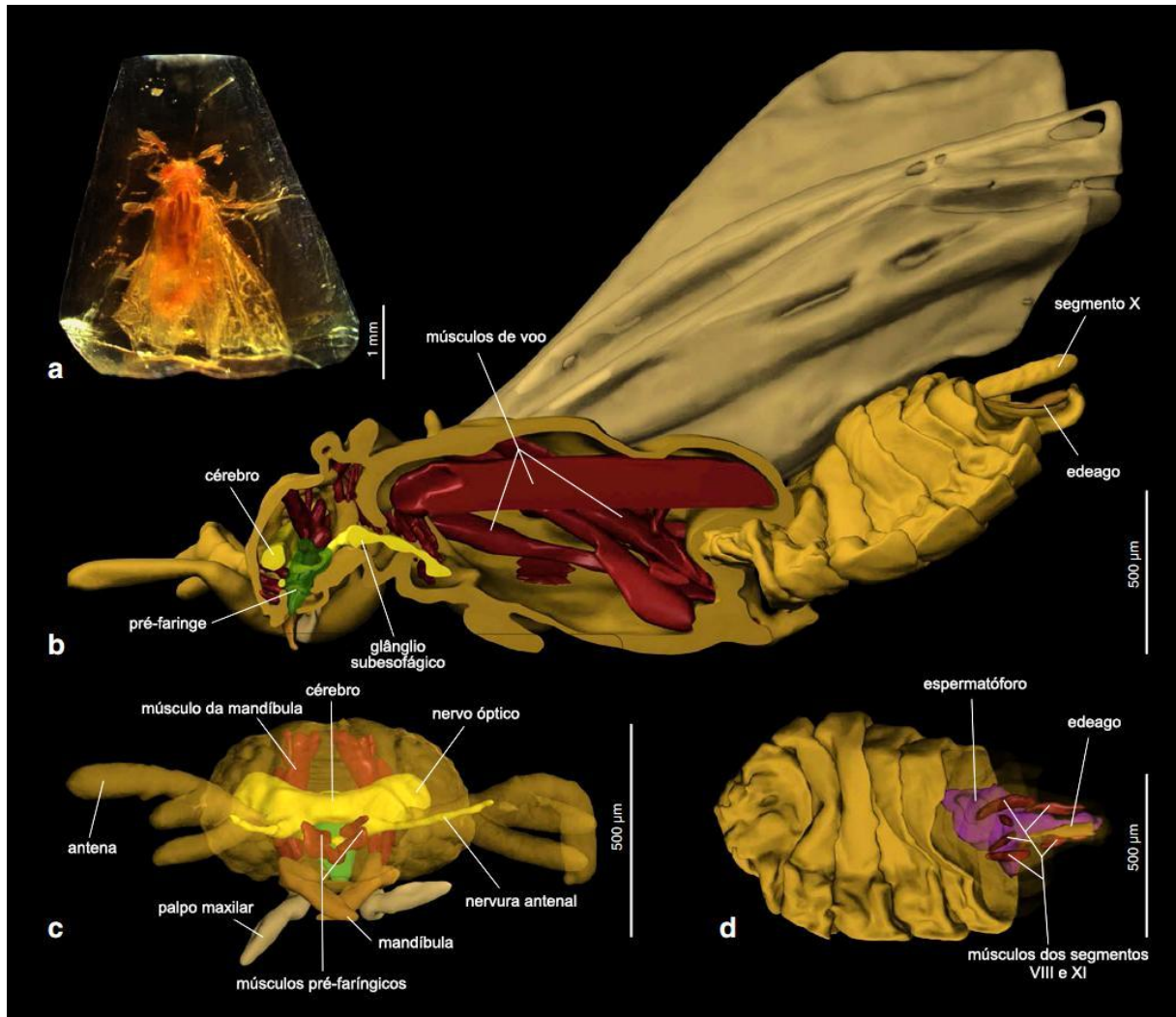
Figura 1. Pupa de *Glyptotendipes glaucus*; A - tergito (microscópio óptico); B - tergito (MEV); C - tegumento da parte inferior do tergito (MEV); D - tegumento da parte posterior do tergito (MEV); E - ganchos no tergito (MEV); F - epaulette (MEV)



Fonte: Kownacki, Szarek-Gwiazda e Woźnicka (2015)

Adicional a essas técnicas de taxonomia baseada, exclusivamente, em morfologia estão: a Microtomografia por Radiação Síncrotron (POHL *et al.*, 2010), uma tecnologia que permite escanear objetos tridimensionais e criar imagens detalhadas de seu interior (Figura 2) a partir de uma radiação eletromagnética altamente intensa e de alta energia, e o Perfilamento de Reflectância Hiperespectral (WANG; NANSEN; ZHANG, 2016), utilizado para analisar a reflectância da luz da amostra, partindo do princípio de que diferentes materiais possuem características de reflectância únicas em diferentes comprimentos de onda.

Figura 2. A - †*Mengea tertiaría* (Strepsiptera) em âmbar báltico; imagem gerada por Microtomografia por Radiação Síncrotron B - corpo dorsal; C - cabeça frontal; D - abdômen dorsal



Fonte: Pohl *et al.* (2010), traduzido pela autora.

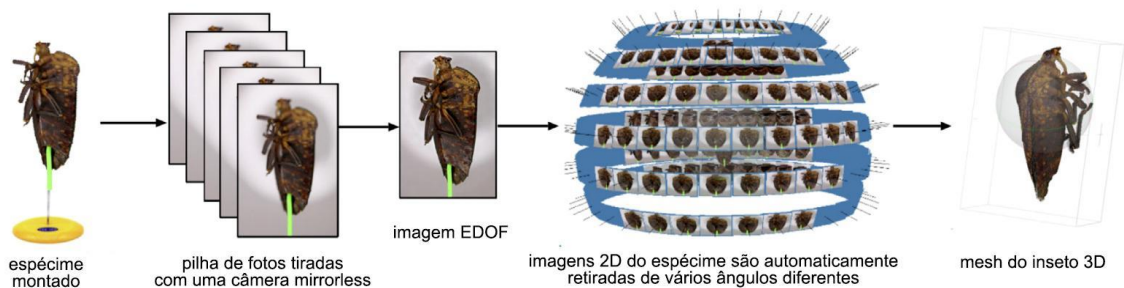
Com os avanços de novas tecnologias, pesquisadores buscam desenvolver técnicas modernas para o uso da morfologia dentro da taxonomia. Um desses métodos é o desenvolvimento de modelos tridimensionais (3D) em cores reais (NGUYEN *et al.*, 2014). Uma das principais vantagens dos modelos de insetos 3D em cores é a possibilidade de examinar e manipular as características dos insetos de maneiras que não seriam possíveis ou difíceis de realizar com espécimes reais já que os modelos podem ser girados e ampliados para uma análise mais minuciosa. Essa capacidade de visualização interativa proporciona aos taxonomistas uma

compreensão mais completa e detalhada das características morfológicas do espécime.

Em seu trabalho de 2014, Nguyen *et al.* argumentam que as coleções entomológicas de modelos 3D são viáveis e de custo acessível, podendo ser empregadas imediatamente. Embasando-se nisso, Doan e Nguyen (2023) apresentaram um protótipo de captura de imagens 3D de insetos que, além do custo-benefício, é completamente automatizado e pode ser usado com uma maior variedade de espécies de insetos.

Esse modelo usa a fotogrametria, ou seja, a captura de várias fotos de um objeto em diferentes ângulos e posições para a constituição de uma imagem 3D. As imagens capturadas de mesmo ângulo, mas de diferentes distâncias de foco são processadas e transformadas em imagens EDOF (*Extended Depth of Field*), conferindo a elas maior profundidade. Essas imagens EDOF 2D são então processadas em um software especializado, onde são analisadas as sobreposições e diferenças nas imagens para calcular as dimensões e a forma do objeto, gerando então as imagens 3D (Figura 3). O que torna essa técnica simples e acessível depende do material utilizado, sendo necessário apenas câmera comum e o software de montagem.

Figura 3. Visão geral do processo de criação de modelos 3D de insetos



Fonte: Doan e Nguyen (2023)

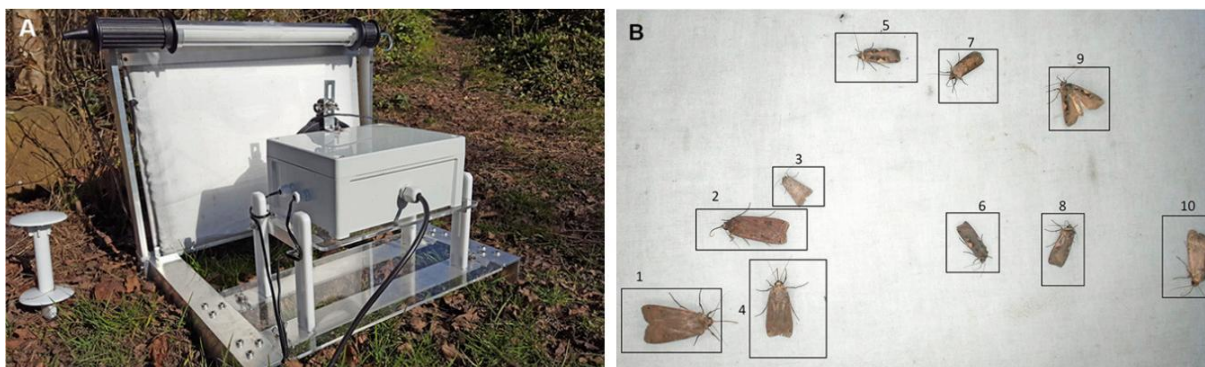
Em 2012, Wang *et al.* apresentaram um sistema que pode identificar insetos a nível de Ordem, utilizando técnicas de redes neurais artificiais (*Artificial Neural Network - ANN*) e máquinas de vetores de suporte (*Support vector Machine - SVM*). Esses dois métodos permitem que computadores aprendam a partir de exemplos e dados para realizar tarefas específicas. Nesse trabalho, Wang *et al.*

justificam, ainda, que há uma demanda de métodos de identificação de imagens de insetos e que o software desenvolvido apresenta boa estabilidade para classificação a nível de Ordem.

Um dos principais benefícios da aplicação da inteligência artificial na taxonomia de insetos é a velocidade e a eficiência no processo de identificação. Enquanto a identificação manual pode levar muito tempo e exigir conhecimento especializado (MITCHELL, 2008), os algoritmos de inteligência artificial podem classificar rapidamente com base em características que foram previamente estabelecidas. Porém, as características que os computadores podem extrair automaticamente e características usadas por taxonomistas para descrever insetos podem ser diferentes (WANG *et al.*, 2012).

Além da extração de dados realizada apenas por imagens 2D, redes neurais convolucionais (*Convolutional Neural Networks - CNN*), um método específico dentro das técnicas de redes neurais artificiais, pode apresentar potencial para detecção automática e classificação de insetos através de vídeos e monitoramento *in situ* (HØYE *et al.*, 2021) (Figura 4). Esse método tornaria a catalogação de espécimes mais rápida e eficiente, permitindo que pesquisadores processassem grandes volumes de dados em um curto período de tempo.

Figura 4. A - Armadilha luminosa para monitorar espécies de mariposas noturnas, sendo capaz de capturar imagens automaticamente com base em um detector de movimento; B - algoritmo de visão computacional que pode rastrear e contar mariposas individuais.



Fonte: HØYE *et al.*, 2021

Esses modelos de insetos 3D têm um potencial significativo para a educação e a divulgação científica. Eles podem ser usados em escolas e universidades, permitindo que os estudantes explorem a morfologia dos insetos de uma forma prática, facilitando a compreensão dos conceitos taxonômicos.

Não apenas para o ensino e pesquisa, modelos 3D podem ser um recurso interessante para identificar e catalogar espécies ameaçadas e até mesmo extintas (desde que haja espécimes em bom estado de conservação). Também podem ser utilizados em aplicativos de identificação, para leigos, em formato de chaves entomológicas interativas. Além disso, eles podem ser aplicados para desenvolver materiais de referência com a finalidade de formação de especialistas e técnicos que trabalham em diferentes áreas, tais quais como agricultura e saúde pública.

No caso desses modelos possuírem a necessidade de recursos financeiros elevados, pode-se considerar a ideia da criação de bancos de dados institucionais de imagens 2D de alta resolução. Esses bancos de dados ficariam disponíveis para a comunidade acadêmica, porém seriam atualizados apenas por pessoas autorizadas, com conhecimentos taxonômicos específicos, como professores e grupos de estudos na área da entomologia. Isso também seria um bom instrumento de estudo quando não se tivesse acesso a determinados espécimes de forma física.

3.2 Taxonomia integrativa

Técnicas taxonômicas integrativas vêm sendo empregadas há alguns anos na taxonomia moderna (WANG; NANSEN; ZHANG, 2016; PADIAL *et al.*, 2010; YEATES *et al.*, 2011), sendo originalmente proposta por Dayrat (2005). Embora alguns taxonomistas não concordem com esse termo ou sua aplicação (VALDECASAS; WILLIAMS; WHEELER, 2008), pesquisadores defendem que o uso de apenas morfologia na taxonomia está ultrapassado (COOK *et al.*, 2010), porém ela ainda continua sendo uma parte indispensável para a sistemática dos insetos (FRIEDRICH *et al.*, 2013) mesmo com os avanços para descoberta e classificação a partir de dados moleculares.

Quando se decide integrar técnicas de classificação, o mais indicado é a padronização de escolha e quantidade de métodos, sendo a seleção de três ou mais, o ideal. De forma geral, taxonomistas utilizam a morfologia de maneira inicial em

conjunto com dados genéticos, sendo esses os principais métodos dentro da taxonomia integrativa prática (SCHLICK-STEINER *et al.*, 2010).

A escolha pode partir do mais facilitado e mais utilizado. A obtenção de informações provindas de características fenotípicas dos insetos, por exemplo, é algo simples para qualquer pessoa com conhecimento suficiente em entomologia, logo, para um taxonomista experiente, uma pré-classificação pode ser realizada de forma rápida. Imediatamente a isso, a análise genética é indicada. Schlick-Steiner *et al.* (2010) recomendam uma ordem a ser considerada para a escolha das técnicas que serão utilizadas (Tabela 1).

Tabela 1. Tomada de decisão no processo de escolha de métodos a serem utilizados na taxonomia integrativa

	Sugestão de ordem de consideração dos métodos
Informações morfológicas; nomenclatura binominal	Mo
Informações genéticas	Nu → Co → En
Informações complementares	Comp → Ci → Qm → Mt → Re → Ec → Hs

Fonte: Schlick-Steiner *et al.* (2010), traduzido pela autora.

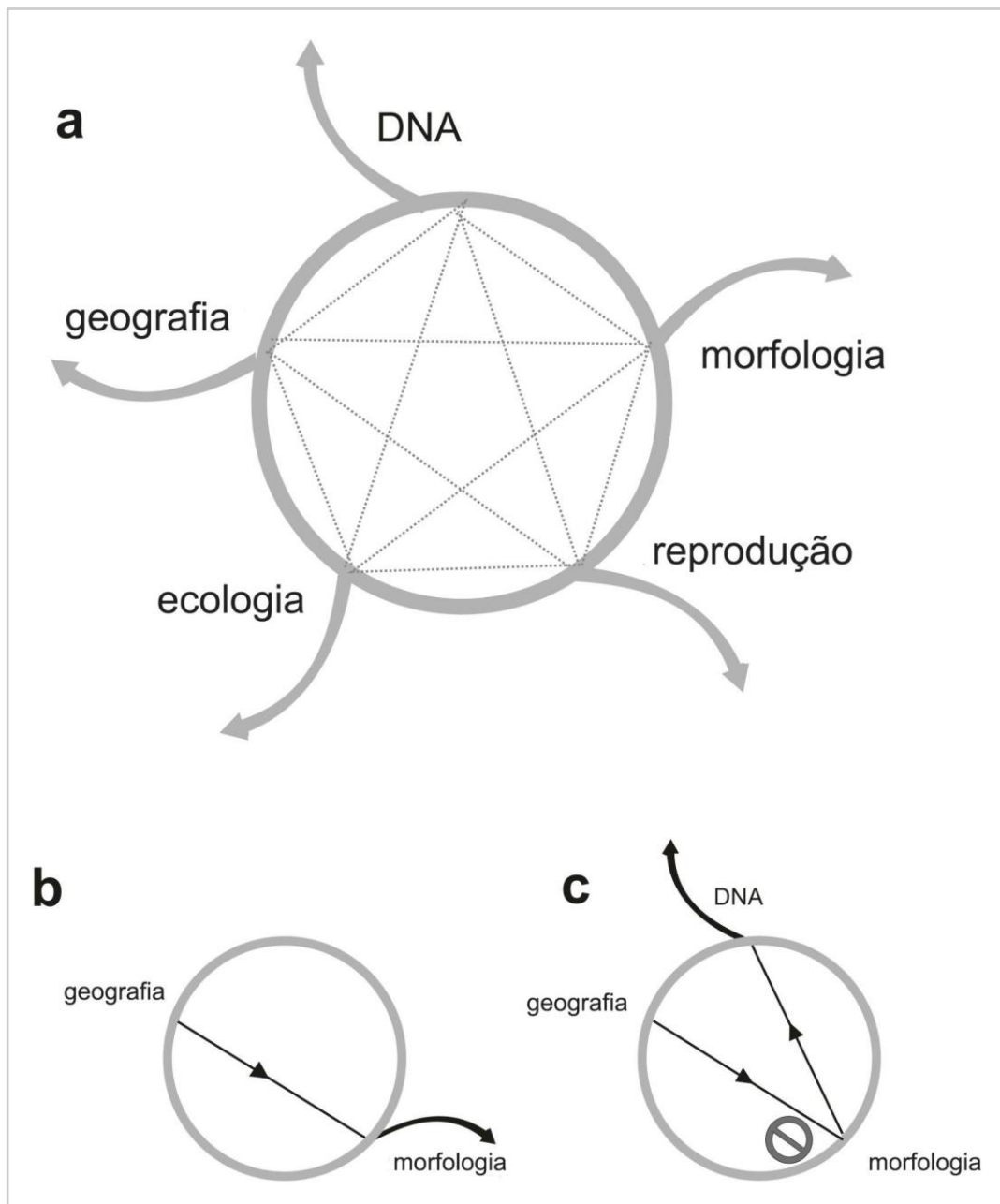
Abreviações: Mo, morfologia; Nu, DNA nuclear; Co, scanner completo de genoma; En, enzima; Comp, comportamento; Ci, citogenética; Qm, química; Mt, DNA mitocondrial; Re, compatibilidade de reprodução; Ec, ecologia; Hs, histórico.

A proposta de delimitação de espécies a partir de diferentes técnicas dentro de um único sistema permitiu que taxonomistas pudessem explorar diferentes opções de análise. Consequente a isso, a tomada de decisão para o uso de cada técnica dependerá de cada taxonomista, muitas vezes sem qualquer padrão aplicado. Por exemplo, alguns taxonomistas podem iniciar a classificação a partir da localização geográfica do espécime, enquanto outro iniciará através da morfologia ou mesmo de dados moleculares.

Padial *et al.* (2010) explicam as diferentes abordagens de taxonomia integrativa, separando-as em integração por congruência e integração por acumulação. A integração por congruência envolve a combinação de diferentes dados independentes que possuem alguma coerência entre si. Isso significa que tipos de

dados variados, como os morfológicos, genéticos, ecológicos etc, são analisados e os resultados obtidos são consistentes, apontando para a mesma classificação (Figura 5), o que resulta em uma maior estabilidade taxonômica (WANG; NANSEN; ZHANG, 2016).

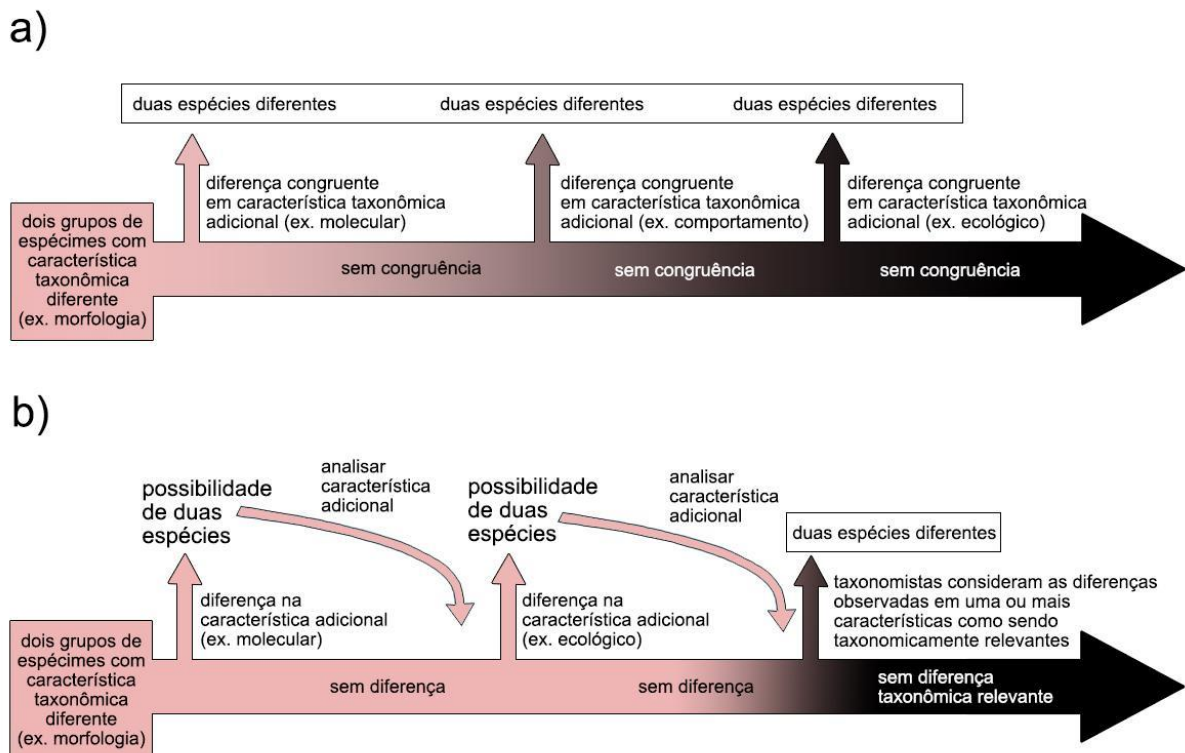
Figura. 5 - O círculo taxonômico. a) abordagem de integração por congruência; b) na taxonomia clássica; c) em espécies crípticas.



Fonte: PADIAL et al., 2010, redesenhado de DeSalle. Tradução: Autora.

A integração por congruência é considerada ideal na taxonomia integrativa. Ao analisar os diferentes tipos de dados, tem-se uma maior estabilidade e uma classificação com menores chances de erros. Por exemplo, ao se analisar uma espécie apenas através de características morfológicas e havendo dúvidas quanto à exatidão de tal classificação, ou não sendo possível realizá-la, pode-se utilizar uma classificação por outro método (como a molecular) que vai afirmar ou negar a classificação anterior. Ainda havendo dúvidas ou mesmo uma não-classificação, utiliza-se mais um critério e assim por diante (Figura 6a).

Figura 6. Representação esquemática de protocolos de: A - taxonomia integrativa por congruência e B - taxonomia integrativa por acumulação;



Fonte: PADIAL *et al.*, 2010, redesenhado. Tradução: Autora.

Um exemplo interessante sobre classificação por congruência foi apresentado no trabalho de Wang, Nansen e Zhang (2016), em que foi realizado uma integração de 3 métodos taxonômicos para a classificação de espécies crípticas do gênero *Bundera*: Classificação tradicional; classificação molecular utilizando o Citocromo c Oxidase subunidade I (COI) e o gene 16S rRNA; e classificação por

reflectância, que foi realizada por meio de uma câmera hiperespectral, com bandas espectrais de 411 a 870 nm.

O uso de reflectância na taxonomia de insetos não é inexistente, porém também não é um método vastamente utilizado dentro da taxonomia integrativa. Para entender como essa classificação funciona, deve-se compreender que a reflectância é a proporção de luz incidente que reflete em uma superfície e que cada material tem um padrão de refletância único. Ao analisar a reflectância de uma superfície em diferentes comprimentos de onda é possível obter um perfil característico.

Com a utilização de três diferentes métodos, foi demonstrado a eficácia da taxonomia integrativa ao concluírem que, ao lidar com espécies que possuem poucas diferenças morfológicas, o uso integrado de outros métodos além da morfologia permite o esclarecimento para a diferenciação das espécies.

Na integração por acumulação, os diferentes dados não precisam ser completamente congruentes entre si, fornecendo dados adicionais quando analisados em conjunto (Figura 6b). Essa integração considera uma variedade de informações e só então estabelece-se uma tomada de decisão a partir dessas, podendo ser selecionadas apenas as informações de maior interesse. Esse método é mais utilizado por taxonomistas mais tradicionais (PADIAL *et al.*, 2010).

3.2.1 DNA Barcodes

Foi citado anteriormente que a classificação genética é a segunda recomendada para se realizar dentro da taxonomia integrativa. Dentre as técnicas genéticas utilizadas para a classificação de insetos, o DNA barcodes (código de barras de DNA) proposto por Hebert *et al.* (2003) é o principal. Esse termo é empregado para indicar que espécies possuem uma sequência única de genes (DEWALT, 2011), sendo um método usado para identificar e auxiliar na descoberta de novas espécies (PACKER *et al.*, 2009).

O DNA barcodes da região do gene mitocondrial, chamado Citocromo c Oxidase subunidade I (COI), passou a ser o mais utilizado na classificação animal por possuir características de interesse, tais como: ter uma região amplamente conservada em animais, de fácil aquisição e alinhamento e com alto nível de

diversidade (HEBERT *et al.*, 2003). Pečnikar e Buzan (2013) explicam as propriedades desejadas do DNA barcodes da seguinte forma:

1. O fragmento de DNA deve ser quase idêntico em espécimes da mesma espécie, mas diferente entre indivíduos de espécies diferentes;
2. A seção deve ser padronizada (a mesma seção deve ser usada em diferentes grupos taxonômicos);
3. O marcador deve ser robusto, com sítios de ligação de primers conservadores que permitam sua amplificação e sequenciamento facilmente. (traduzido pela autora.)

Além do COI, outros genes mitocondriais também podem ser usados como DNA barcodes em insetos como o gene Citocromo b (Cytb) (SIMON; WELLER, 2001) e o gene 16S rRNA (SHOUCHE; PATOLE, 2000).

Apesar de estar sendo popularizado dentro da taxonomia, o DNA deve ser apenas mais uma ferramenta para a delimitação de espécies e nunca poderá ser usado para descrever espécies isoladamente (HEBERT; GREGORY, 2005), pois DNA barcodes não fornece informações o suficiente para caracterizar uma espécie desconhecida (JIMBO; KATO; ITO, 2011). Seu uso, entretanto, já se provou eficiente na classificação de espécies putativas em diferentes ocasiões, reafirmando sua utilidade na taxonomia integrativa.

Kekkonen e Hebert (2014) descreveram um experimento com a utilização de DNA barcodes para a classificação de espécies putativas da subfamília Hypertrophinae (Lepidoptera) na Austrália, utilizando-se de 864 exemplares para fazê-lo. Desses, 502 DNA barcodes completos foram extraídos, cobrindo um total de 47 de 51 espécies de Hypertrophinae já conhecidas. Com a análise, resultou que dos exemplares observados, há a probabilidade de existir um real total de 124 espécies, mais do que o dobro das espécies anteriormente conhecidas.

Apesar dos resultados positivos relacionados ao seu uso, o DNA barcodes ainda possui muitos problemas teóricos e práticos que precisam ser superados (DEWALT, 2011). Uma limitação da utilização de DNA foi exemplificada no trabalho de Kranzfelder, Ekrem e Stur (2017), que afirmaram a sua inutilidade para a classificação de Chironomidae (Diptera) a partir de exúvias pupais coletadas na Noruega e Costa Rica. Esse teste foi realizado com 380 exemplares de exúvia de

Chironomidae sendo feita a comparação do uso de morfologia e DNA. A partir da morfologia foram identificados 190 (100%) exemplares, tanto na Noruega como na Costa Rica, enquanto apenas 27 exemplares (14,2%) da Noruega e 69 exemplares (36,3%) da Costa Rica foram identificados com a utilização do DNA barcodes.

A taxonomia está sendo revitalizada através de DNA barcoding, pois é um método que pode ser feito de forma rápida e de baixo custo (MILLER, 2007) e, de acordo com Pires e Marinoni (2010), sem a necessidade de um taxonomista. Esse argumento, porém, expõe o que Audísio (2017) chama de “marginalização”, referindo-se a um impedimento taxonômico causado pela aplicação de modelos de classificação moleculares automáticos e na diminuição no número de taxonomistas.

3.2.2 Inteligência Artificial (IA) como ferramenta de auxílio

A inteligência artificial, principalmente por meio de técnicas como aprendizado de máquina e redes neurais artificiais, tem a capacidade de processar grandes quantidades de dados, além de identificar padrões complexos. Seu uso dentro da taxonomia vem se tornando bastante perceptível, nos últimos anos, associada tanto à morfologia (HØYE *et al.*, 2021) quanto à genética (ZITO; RIGON; DUNSON, 2022).

Um exemplo relacionado à DNA barcodes é a metodologia de classificação, nomeada BayesANT (*BAYESiAn Nonparametric Taxonomic classifier*) (ZITO; RIGON; DUNSON, 2022), empregada através de uma abordagem Bayesiana não paramétrica, ou seja, um modelo estatístico de classificação flexível que pode se adaptar aos dados sem depender de uma estrutura pré-definida.

Essa abordagem permite a classificação de grupos de forma automática à medida que mais informações são disponibilizadas. O modelo BayesANT, então, se faz necessário a partir da informação de bancos de dados de DNA barcodes, que são atualmente utilizados, possuem um grande número de informações incorretas, que variam desde rotulagens erradas até “novas” descobertas de táxons previamente existentes (ZITO; RIGON; DUNSON, 2022).

A classificação a partir do uso de inteligência artificial é consideravelmente mais rápida e eficaz do que o uso da taxonomia tradicional, porém métodos de aprendizagem de máquinas, tanto relacionadas a estruturas morfológicas extraídas

de imagens quanto a DNA barcodes, não substituem a taxonomia tradicional pois ainda há a necessidade do conhecimento de taxonomistas especialistas (HØYE *et al.*, 2021; ZITO; RIGON; DUNSON, 2022).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho se faz relevante pela necessidade de esclarecer que, apesar da taxonomia ser uma ciência que está em constante evolução, ela ainda possui sua base na taxonomia tradicional baseada em morfologia. Foi apresentado um pouco da história da taxonomia e as técnicas desenvolvidas ao longo do tempo, partindo da classificação essencialista da Era Aristotélica até a utilização de taxonomia integrativa com técnicas moleculares nos dias de hoje.

Na literatura houve divergências entre autores sobre o uso da taxonomia integrativa como sendo indispensável (DAYRAT, 2005) e desnecessária (VALDECASAS; WILLIAMS; WHEELER, 2008); sobre o uso da tecnologia para a classificação de insetos como um impedimento para a taxonomia (EBACH.; HOLDREGE, 2005; AUDISIO, 2017) e como um método eficiente (WANG; LIN; LIANG, 2012) que trará novas e empolgantes oportunidades (HØYE *et al.*, 2020); e sobre métodos morfológicos tradicionais como sendo tedioso e demorado (MILLER, 2007) e essencial para a existência da taxonomia (EBACH *et al.*, 2010).

Cook *et al* (2010) defendem que a taxonomia atual está além do período onde não é mais limitada a apenas morfologia, pois ela necessita de especialistas com anos de treinamento e acesso a recursos especializados. Mitchell (2008) diz que a taxonomia tradicional é trabalhosa, altamente especializada, de alto custo, demorada e, em países biologicamente diversos, muitas vezes impossível de ser realizada. Para Tautz *et al* (2003), conhecimentos da área da taxonomia morfológica são perdidos quando os especialistas se aposentam e seus trabalhos publicados são de difícil acesso.

Apesar de alguns autores serem arbitrários ao uso de morfologia como principal método de classificação, quando se estuda taxonomia na entomologia, a prioridade é o estudo morfológico dos insetos. Packer (2008) citado por Packer *et al* (2009) diz que “chaves são criadas por aqueles que não precisam delas para aqueles que não sabem usá-las”. Esse argumento prova o quanto o estudo da morfologia é importante e indispensável no estudo taxonômico, pois existe a necessidade de conhecer morfologia e aplicar esse conhecimento diante, por exemplo, de uma situação em que o uso de uma chave entomológica é a única opção.

A morfologia é a porta de entrada para a taxonomia, porém ela está sendo deixada de lado mais e mais. Os avanços nas metodologias de classificação estão deixando para trás os conhecimentos taxonômicos morfológicos e os substituindo de tal forma que, possivelmente, em pouco tempo não será mais necessário a existência do estudo morfológico do inseto para que seja possível classificá-lo.

Para impedir que o estudo da taxonomia desapareça completamente é necessário se adequar aos avanços tecnológicos sem se curvar a eles. Os trabalhos de Nguyen *et al* (2014) e Doan e Nguyen (2023), por exemplo, trazem métodos interessantes de desenvolvimento de banco de dados de imagens 3D. Esses modelos de insetos 3D têm um potencial significativo para a educação e a divulgação científica. Eles podem ser usados em escolas, universidades e museus, permitindo que a morfologia dos insetos seja explorada de uma forma prática, facilitando a compreensão dos conceitos taxonômicos.

Não apenas para o ensino e pesquisa, modelos 3D podem ser um recurso interessante para identificar e catalogar espécies ameaçadas e até mesmo extintas (desde que haja espécimes em bom estado de conservação). Também podem ser utilizados em aplicativos de identificação em formato de chaves entomológicas interativas. Além disso, eles podem ser usados para desenvolver materiais de referência para a formação de especialistas e técnicos que trabalham em diferentes áreas, tais quais como agricultura e saúde pública.

No caso desses modelos possuírem a necessidade de recursos financeiros elevados, pode-se considerar a ideia da criação de bancos de dados institucionais de imagens 2D de alta resolução. Esses bancos de dados ficariam disponíveis para a comunidade acadêmica, porém seriam atualizados apenas por pessoas autorizadas, com conhecimentos taxonômicos específicos, como professores e grupos de estudos na área da entomologia. Isso também seria um bom instrumento de estudo para quando não se tem acesso físico a determinados espécimes.

Já o DNA barcodes é uma ferramenta que tornou-se essencial para a taxonomia e sistemática nos dias atuais, porém não substitui completamente o uso de métodos morfológicos. Tautz *et al* (2003) defendem que a classificação molecular poderá chegar a ser o principal meio de classificação mais a frente e que a nomenclatura binomial possa acompanhar um sistema de identificação numerada

equivalente à usada por pessoas, que possuem um nome próprio e um número de identificação pessoal único.

Ao mencionar uma melhora na nomenclatura e identificação numérica, Tautz *et al* (2003) se referem a rotulagens e classificações erradas em bancos de dados, um problema clássico relacionado ao uso de DNA barcodes. Desde então, houve diminuição desse problema a partir da criação de bancos de dados de DNA que possuem referências de procedência para que, em caso de erros, eles possam ser revisados (PACKER *et al.*, 2009).

O método de taxonomia integrativa com DNA barcodes, apesar de alguns autores discordarem, é altamente recomendado. Antes mesmo dos avanços tecnológicos envolvendo classificação molecular, taxonomistas já usavam diferentes formas de integração para realizar a classificação de insetos. Seu uso na didática, porém, ainda não é amplamente utilizado e dificilmente algo possível de realizar, atualmente, quando o uso de métodos de classificação molecular ainda é visto com maus olhos por taxonomistas tradicionais.

É importante lembrar, contudo, que a utilização de DNA barcodes é uma ferramenta para auxiliar na taxonomia, não para substituí-la. Citando Ebach e Holdrege (2005), “DNA *barcoding* gera informação, não conhecimento” e é esperado de taxonomias que elas possuam as duas coisas.

REFERÊNCIAS

- AUDISIO, P. Insect taxonomy, biodiversity research and the new taxonomic impediments. **Fragmenta Entomologica**, [s. l.], v. 49, p. 121, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4081/fe.2017.252>
- CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from their Utilization . [s. l.], 2010. Disponível em: <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/27555>
- COOK, L. G. *et al.* Need morphology always be required for new species descriptions? **Invertebrate Systematics**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 322, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/is10011>. Acesso em: 20 maio 2023.
- COSTELLO, M. J.; MAY, R. M.; STORK, N. E. Response to Comments on “Can We Name Earth’s Species Before They Go Extinct?” **Science**, [s. l.], v. 341, n. 6143, p. 237–237, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1237381>. Acesso em: 18 maio 2023.
- DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 407–415, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- DEWALT, R. E. DNA barcoding: a taxonomic point of view. **Journal of the North American Benthological Society**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 174–181, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1899/10-021.1>. Acesso em: 23 maio 2023.
- DOAN, T.; NGUYEN, C. V. A low cost digital 3D insect scanner. **Information Processing in Agriculture**, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2023.03.003>. Acesso em: 21 maio 2023.
- EBACH, M. C.; HOLDREGE, C. DNA barcoding is no substitute for taxonomy. **Nature**, [s. l.], v. 434, n. 7034, p. 697–697, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/434697b>

EBACH, M. C.; VALDECASAS, A. G.; WHEELER, Q. D. Impediments to taxonomy and users of taxonomy: accessibility and impact evaluation. **Cladistics**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 550–557, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2011.00348.x>

FRIEDRICH, F. *et al.* Insect morphology in the age of phylogenomics: Innovative techniques and its future role in systematics. **Entomological Science**, [s. l.], v. 17, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ens.12053>

GILBERT, M. T. P. *et al.* DNA Extraction from Dry Museum Beetles without Conferring External Morphological Damage. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. e272, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000272>

GODFRAY, C. Challenges for taxonomy. **Nature**, [s. l.], v. 417, n. 6884, p. 17–19, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/417017a>

HEBERT, P. *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 270, n. 1512, p. 313–321, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>. Acesso em: 19 maio 2023.

HEBERT, P. D. N.; GREGORY, T. R. The Promise of DNA Barcoding for Taxonomy. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 852–859, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10635150500354886>

HØYE, T. T. *et al.* Deep learning and computer vision will transform entomology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 118, n. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.2002545117>

HUBERT, N.; HANNER, R. DNA Barcoding, species delineation and taxonomy: a historical perspective. **DNA Barcodes**, [s. l.], v. 3, n. 1, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/dna-2015-0006>

INTERNATIONAL CODE OF ZOOLOGICAL NOMENCLATURE. 4th. ed. London: International Commission on Zoological Nomenclature, 1999. *E-book*.

JINBO, U.; KATO, T.; ITO, M. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. **Entomological Science**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 107–124, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.14798298.2011.00449.x>. Acesso em: 22 maio 2023.

KEKKONEN, M.; HEBERT, P. D. N. DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. **Molecular Ecology Resources**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 706–715, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12233>. Acesso em: 23 maio 2023.

KOWNACKI, A.; SZAREK-GWIAZDA, E.; WOŹNICKA, O. The importance of scanning electron microscopy (sem) in taxonomy and morphology of Chironomidae (Diptera). **EUROPEAN JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCES**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 41–44, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.14712/23361964.2015.75>

KRANZFELDER, P.; EKREM, T.; STUR, E. DNA Barcoding for Species Identification of Insect Skins: A Test on Chironomidae (Diptera) Pupal Exuviae. **Journal of Insect Science**, [s. l.], v. 17, n. 6, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iex075>

KRELL, F.-T. Impact factors aren't relevant to taxonomy. **Nature**, [s. l.], v. 405, n. 6786, p. 507–508, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/35014664>. Acesso em: 11 fev. 2023.

LINNAEUS, C.; SALVIUS, L. **Systema naturae per regna tria naturae :secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis**. Holmiae: Impensis Direct. Laurentii Salvii, 1758. *E-book*.

LÖBL, I.; LESCHEN, R. Demography of Coleopterists and Their Thoughts on DNA Barcoding and the Phylocode, with Commentary. **The Coleopterists Bulletin**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 284–292, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1649/850.1>

MANKTELOW, M. **History of Taxonomy**. Uppsala: [s. n.], 2010. Disponível em: http://www.atbi.eu/summerschool/files/summerschool/Manktelow_Syllabus.pdf. Acesso em: 18 maio 2023.

- MILLER, S. E. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 104, n. 12, p. 4775–4776, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0700466104>. Acesso em: 22 maio 2023.
- MITCHELL, A. DNA barcoding demystified. **Australian Journal of Entomology**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 169–173, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2008.00645.x>. Acesso em: 18 maio 2023.
- MONTGOMERY, G. A. *et al.* Is the insect apocalypse upon us? How to find out. **Biological Conservation**, [s. l.], v. 241, p. 108327, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108327>. Acesso em: 20 maio 2023.
- NGUYEN, C. V. *et al.* Capturing Natural-Colour 3D Models of Insects for Species Discovery and Diagnostics. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. e94346, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094346>
- PACKER, L. *et al.* DNA barcoding and the mediocrity of morphology. **Molecular Ecology Resources**, [s. l.], v. 9, p. 42–50, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02631.x>. Acesso em: 23 maio 2023.
- PADIAL, J. M. *et al.* The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 16, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/17429994716>
- PEČNIKAR, Ž. F.; BUZAN, E. V. 20 years since the introduction of DNA barcoding: from theory to application. **Journal of Applied Genetics**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 43–52, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13353-013-0180-y>
- PIRES, A. C.; MARINONI, L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. **Biota Neotropica**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 339–346, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1676-06032010000200035>. Acesso em: 22 maio 2023.
- POHL, H. *et al.* Reconstructing the anatomy of the 42-million-year-old fossil †Mengea tertiaria (Insecta, Strepsiptera). **Naturwissenschaften**, [s. l.], v. 97, n. 9, p. 855–859, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00114-010-0703-x>

QUICKE, D. L. J. **Principles and Techniques of Contemporary Taxonomy**. 1. ed. [S. l.]: Springer Science & Business Media, 1993. *E-book*.

SCHLICK-STEINER, B. C. *et al.* Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 421–438, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085432>

SHOUCHE, Y. S.; PATOLE, M. S. Sequence analysis of mitochondrial 16S ribosomal RNA gene fragment from seven mosquito species. **Journal of Biosciences**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 361–366, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02703789>.

SIMMONS, R. B.; WELLER, S. J. Utility and Evolution of Cytochrome b in Insects. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 196–210, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0958>

STORK, N. E. How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 31–45, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurevento020117043348>. Acesso em: 17 maio 2023.

TAUTZ, D. *et al.* A plea for DNA taxonomy. **Trends in Ecology & Evolution**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 70–74, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(02\)00041-1](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(02)00041-1). Acesso em: 26 mar. 2023.

VALDECASAS, A. G.; WILLIAMS, D.; WHEELER, Q. D. “Integrative taxonomy” then and now: a response to Dayrat (2005). **Biol J Linn Soc**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 211–216, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.10958312.2007.00919.x>.

WANG, J. *et al.* A new automatic identification system of insect images at the order level. **KnowledgeBased Systems**, [s. l.], v. 33, p. 102–110, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.knosys.2012.03.014>

WANG, Y.; NANSEN, C.; ZHANG, Y. Integrative insect taxonomy based on morphology, mitochondrial DNA, and hyperspectral reflectance profiling. **Zool J Linn Soc**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 378–394, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/zoj.12367>.

WILSON, E. O. The encyclopedia of life. **Trends in Ecology & Evolution**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 77–80, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(02\)00040-x](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(02)00040-x). Acesso em: 8 maio 2023.

WINSOR, M. P. Nonessentialist methods in preDarwinian taxonomy. **Biology and Philosophy**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 387–400, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1024139523966>

YEATES, D. K. *et al.* Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? **Systematic Entomology**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 209–217, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.00558.x>. Acesso em: 18 jan. 2021.

ZITO, A.; RIGON, T.; DUNSON, D. B. Inferring taxonomic placement from DNA barcoding aiding in discovery of new taxa. **Methods Ecol Evol**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 529–542, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/2041210X.14009>. Acesso em: 22 maio 2023.