



**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Zoologia
Programa de Pós-Graduação em Zoologia**

**Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata,
Zygoptera) e taxonomia de *Mecistogaster* Rambur,
1842 e *Platystigma* Kennedy, 1920**

DÉBORAH SOUZA SOLDATI LACERDA

Belo Horizonte, MG

2021

DÉBORAH SOUZA SOLDATI LACERDA

**Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata,
Zygoptera) e taxonomia de *Mecistogaster* Rambur,
1842 e *Platystigma* Kennedy, 1920**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia do Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Kirstern Lica Follmann Haseyama

Belo Horizonte, MG

2021

043

Lacerda, Déborah Souza Soldati.

Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e taxonomia de *Mecistogaster* Rambur, 1842 e *Platystigma* Kennedy, 1920 [manuscrito] / Déborah Souza Soldati Lacerda. – 2021.

127 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa . Dra. Kirstern Lica Follmann Haseyama.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

1. Zoologia. 2. Odonatos /anatomia & histologia. 3. Filogenia. 4. Genética. 5. Taxonomia. I. Haseyama, Kirstern Lica Follmann. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 591



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

ATA DE DEFESA DE TESE

DÉBORAH SOUZA SOLDATI LACERDA

Ao vigésimo oitavo dia do mês de maio do ano de dois mil e vinte e um, às oito horas, realizou-se, por webconferência, a defesa de Doutorado da Pós-Graduação em Zoologia, de autoria da Doutoranda Déborah Souza Soldati Lacerda intitulada: “**Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e taxonomia de *Mecistogaster Rambur, 1842* e *Platystigma Kennedy, 1920*”**. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Dra. Kirstern Lica Follmann Haseyama, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para a candidata para apresentação de seu trabalho.

Esteve presente a Banca Examinadora composta pelos membros: Adalberto José dos Santos, Adolfo Cordero Rivera, Almir Rogério Pepato, Frederico Falcão Salles, e demais convidados. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata.

Após a arguição, apenas os Srs. Examinadores permaneceram na sala para avaliação e deliberação acerca do resultado final, a saber: o trabalho foi **APROVADO SEM ALTERAÇÕES**

Belo Horizonte, 28 de maio de 2021

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Kirstern Lica Follmann Haseyama, Professora do Magistério Superior**, em 02/06/2021, às 10:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Almir Rogerio Pepato, Professor do Magistério Superior**, em 02/06/2021, às 12:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adalberto Jose dos Santos, Professor do Magistério Superior**, em 04/06/2021, às 08:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Frederico Falcão Salles, Usuário Externo**, em 07/06/2021, às 09:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adolfo Cordero Rivera, Usuário Externo**, em 07/06/2021, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0762935** e o código CRC **E01781FF**.

Dedico esta tese ao meu querido amigo e educador, professor Angelo Barbosa Monteiro Machado, com todo o meu amor e gratidão!

“A coisa mais importante do cientista é a curiosidade”
Angelo B. M. Machado (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

A primeira pessoa que gostaria de agradecer é o querido e amado professor Angelo Machado. Ele foi a pessoa quem mais me incentivou e me motivou, sempre com um olhar de admiração em cada passo dado por mim, e foi através dele que eu despertei o interesse em dar continuidade aos meus estudos no doutorado. Ele depositou total confiança em mim, me permitindo acessar a coleção de libélulas em sua casa sempre que eu precisasse e transportar para a universidade o que fosse necessário para os meus estudos. Me sinto muito honrada em ter conhecido e convivido com essa pessoa tão genial, que foi meu mestre das libélulas e com quem tive muitos momentos de bate-papo, aprendizado e risadas, e que ficará eternamente em meu coração e lembranças.

Para que eu iniciasse essa jornada, a bolsa de doutorado concedida pela CAPES foi essencial e eu sou muito grata. Agradeço, também, à Sociedade de Odonatologia Latinoamericana (SOL) por ter oferecido uma bolsa para a participação e apresentação do meu projeto de doutorado no Congresso Internacional de Odonatologia no Texas, EUA, em 2019. Foi através dessa viagem que surgiu a possibilidade de visitar o incrível Museu Americano de História Natural (AMNH) em Nova Iorque, onde eu pude estudar os materiais-tipo enviados pelo Museu de Zoologia Comparada da Universidade de Harvard (MCZ). Portanto, sou muito feliz por essa outra oportunidade e agradeço à Dra. Crystal Maier pelo envio do material-tipo depositado no MCZ, ao Dr. Randall Schuh, do AMNH, por gentilmente fazer essa comunicação de empréstimo com o MCZ e por me colocar em contato com a Ruth Sallas, quem me recebeu com muito carinho, me acomodou e me apresentou para outros pesquisadores no AMNH. Agradeço ao Stephen Thurston do AMNH por ter me acompanhado e pacientemente auxiliado com as fotografias do material-tipo. Agradeço ao Dr. Jürgen Deckert pela atenção em me enviar fotos detalhadas e o que mais fosse necessário do material-tipo depositado no Museu de Ciências Naturais, Berlim (MFN) e à Claudia Hömberg pela disposição em produzir essas imagens e compartilhar comigo. Sou grata ao Dr. Benjamin Price por ter me recebido em 2018 no Museu de História Natural de Londres (NHM), onde me sinto em casa e onde pude estudar e fotografar material-tipo e várias espécies africanas e européias de libélulas, que foram essenciais para incrementar o meu projeto de doutorado. Além disso, agradeço ao Programa de Apoio a Doutorandos (PADO) pelo auxílio financeiro para a participação no Curso de Identificação de Odonata que aconteceu em Belém, Pará, que foi ministrado por um dos mais renomados odonatólogos da Argentina e com quem aprendi bastante. Aos curadores e técnicos de coleções brasileiras pelo empréstimo do material para a realização deste trabalho: Dr. Ângelo Pinto (UFPR), Dr. Leandro Juen (UFPA) e Dr. Márcio de Oliveira (INPA).

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zoologia (PGZoo) pela oportunidade, ensinamentos e pela grande contribuição à minha formação acadêmica, assim como ao Eduardo que auxiliou com várias questões acadêmicas nesses quatro anos. Aos alunos da PGZoo pelas trocas, ajudas, dicas, momentos de conversa, muitas vezes na copinha durante o almoço, pelos momentos de descontração e pelo convívio nesses anos. À todos os funcionários do Departamento de Zoologia que através de um bate-papo rápido nos corredores do ICB, um bom dia, um

olhar ou um sorriso já mudavam o humor do dia. Agradeço a dois professores, em especial, Adalberto Santos e Fernando Perini, pelos momentos de conversa no corredor da UFMG ou no laboratório, sempre de forma muito carinhosa e trazendo positividade em relação ao desenvolvimento do meu projeto de doutorado. Agradeço também pelos momentos de troca e descontração pós-almoço no LSI, os quais muitas vezes eram acompanhados por chocolate trazido pelo Adal e cafézinho que colaboravam muito para despertar e amenizar a ansiedade do dia.

Agradeço ao Centro de Aquisição e Processamento de Imagens da UFMG (CAPI) por permitir que eu realizasse um teste de metalização. À Edilene e aos estagiários Carol, Rodrigo, Gustavo e Isaura do Centro de Microscopia Eletrônica e do Laboratório de Microscopia Eletrônica da PUC-Minas por fazerem a metalização e produzirem as fotografias das estruturas de estudo com tanta empolgação e encantamento. Ao professor Paulo Garcia por disponibilizar o espaço de seu laboratório e equipamento para a produção das fotografias contidas na tese e ao Igor por me salvar em alguns momentos durante o processo. Ao Davidson, Jean, Joana, José Eustáquio (Zé), Júlia, Maria Eugênia e Mateus do Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular da UFMG (LBEM) que me ensinaram procedimentos e me auxiliaram em alguma etapa da molecular e que se não fossem eles eu teria desistido, com certeza. Em especial ao Zé, que no fim das contas foi o que mais me ajudou. Ao Dr. Eduardo Tarazona por me permitir usar o Nanodrop em seu laboratório. À Ana pelos ouvidos e atenção nos momentos de desabafo.

Meus agradecimentos ao grupo do WhatsApp “Odonatas do Brasil”, onde formamos uma grande família e compartilhamos informações, artigos, projetos, ideias, novidades, fotos, enfim... tudo relacionado a libélulas e que é um dos poucos grupos de WhatsApp que definitivamente faz sentido pra mim e que traz muita contribuição! Gostaria de agradecer ao Frederico Lencioni pelas longas conversas sobre libélulas que sempre são interessantes e empolgantes e por disponibilizar fotos de estruturas de algumas espécies que, com certeza, deixaram meu trabalho mais bonito e completo. Também agradeço ao Diogo Vilela pelas trocas no mundo das libélulas, por doar perninhas de libélulas para serem usadas no estudo molecular, e por compartilhar imagens e artigos sempre com muita rapidez e disposição, e ao Ricardo Koroiva pelo envio de sequências de DNA e por me esclarecer algumas dúvidas em relação à molecular que ajudaram bastante. Agradeço ao meu amigo da vida e das libélulas Walter com quem sempre estou trocando informações e quem acompanha e apoia o meu caminhar desde sempre.

Agradeço ao professor Fernando Silveira por ter se disponibilizado a me orientar no início do doutorado, por sempre ter me acolhido e por expressar sua alegria com a minha evolução. Gostaria de agradecer imensamente à minha orientadora Kirstern Lica Haseyama por aceitar se aventurar no mundo das libélulas e por sempre procurar entender a morfologia complexa desses insetos. Para quem olha asa de mosca, olhar asa de libélula é desafiador! Rs. Sou muito grata à tanta dedicação e atenção no acompanhamento do meu trabalho e na leitura da minha tese. Você foi excepcional e eu admiro muito todo o seu cuidado com os alunos, não só em relação ao nosso trabalho, mas também em relação ao nosso estado mental. Muito obrigada!

Agradeço aos ex e atuais integrantes do Laboratório de Sistemática de Insetos (LSI) Agustín, Carol, Dani, Gôndia, Fernando, Fred, Igor, João, Júnior, Lica, Ludmila, Paula,

Stephanie e Vinícius pelas conversas, por compartilharmos experiências e pelas trocas durante os seminários do laboratório assim como as delícias pós-seminário que traziam um momento de relaxamento e diversão. Em especial à Stephanie, expressei o meu sentimento de gratidão por trazer luz e alegria para os meus dias durante o trajeto para a UFMG e no laboratório. Muito grata por esse encontro através das libélulas que se transformou em uma linda amizade para a vida!

Agradeço ao movimento Tear dos Sonhos onde conheci e me conectei com mulheres maravilhosas, onde me sinto totalmente leve, acolhida, ouvida, amada, e onde ative os meus sonhos e trago a minha verdade. Foi essa busca e essa vivência que gerou força, confiança e energia para continuar o caminho que escolhi traçar e finalizar. Gratidão mulheres da Mandala Voa Beija-flor, da Mandala Redescobrir com Música e da Mandala Dançar a Vida! Nos amo, deusas! Grata também à Comunidade Germinar, ao mediador de meditação César Di Lascio e à instrutora de yoga Cris Bittencourt que neste finalzinho de tese estão trazendo o autocuidado que eu precisava!

Sou extremamente grata às minhas amigas e irmãs de alma Dyamilla (Dyalinda), Naíla (Ná-irmãzinha), Suellen (Sensuellen) e Tainá (Tchainazinha) por estarem sempre comigo na presença, na energia, na sintonia, nos pensamentos, nas lembranças, nos insights, nas transformações, no pulso, no evoluir a cada dia. Vocês são parte dessa realização! Amo vocês amorinhas! Agradeço demais às outras mulheres muito importantes na minha vida: Dayse, Nayara, Patrícia, Alessandra, Carol que sempre torcem muito por mim e me envolvem de muito amor e carinho! Obrigada queridas e amadas amigas!

Agradeço imensamente ao meu pai Laércio, minha mãedrastra Edméa, meu irmão Fabiano, minha cunhada Thatiane, minha sobrinha Samantha, minha tia Cláudia, minha sogra Wanluiza, meu sogro Fernando e minha cunhada Isabela que sempre estiveram ao meu lado, confiando no meu propósito de vida e me apoiando em todos os momentos! Amo todos vocês! E sou muito grata ao meu marido, companheiro e amigo Fernando quem compartilhou comigo todos os momentos de altos e baixos em todos esses anos e foi muito paciente e compreensivo, me dando força, suporte e amor! Te amo, meu bem!

Por fim agradeço a todos aqueles que mesmo não citados aqui, com certeza estão no meu coração e fizeram a diferença na minha caminhada até aqui!

Resumo

Pseudostigmatidae tem recebido atenção taxonômica nos últimos anos, porém ainda há a necessidade de compreender com maior segurança o seu posicionamento filogenético e se é um grupo natural. Além disso, não há até agora uma hipótese filogenética que reflita a diversidade encontrada nessa família. Com o intuito de testar a posição filogenética de Pseudostigmatidae, assim como reconstruir as relações entre os gêneros e espécies desta família, foram realizados estudos filogenéticos com dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados. Para isso, o estudo apresentou uma maior amostragem de suas linhagens internas, adição de novos caracteres morfológicos e reinterpretação de caracteres usados em trabalhos anteriores. O posicionamento de Pseudostigmatidae e as relações filogenéticas intergenéricas e interespecíficas dessa família foram inferidos através da análise de Máxima Parcimônia com pesagem igual e implícita, e por meio de análises de Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança. Nas análises para inferir o posicionamento de Pseudostigmatidae, a família resultou difilética, e se torna monofilética com a transferência de *Coryphagrion grandis* para Coenagrionidae. Os resultados das análises com dados morfológicos com pesagem implícita e com dados moleculares para verificar as relações entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae apresentam evidências para a monofilia de *Platystigma*. Os dados moleculares foram essenciais para complementar a elucidação do relacionamento entre os gêneros, apesar do relacionamento entre as espécies de alguns gêneros ainda permanecerem dúbios. Portanto, sugere-se a inclusão de espécies não amostradas e de outros genes para uma melhor definição de hipóteses do relacionamento entre as espécies, especialmente de *Mecistogaster* e *Platystigma*. Adicionalmente, foi feito um estudo taxonômico das espécies desses dois gêneros de Pseudostigmatidae, já que incluem espécies e subespécies com status taxonômico mal definido, descritas de forma incompleta e com base em caracteres que são variáveis. Esse estudo resultou na redescrição dos machos de *Mecistogaster linearis*, *M. ornata*, *Platystigma buckleyi* e *P. jocaste*, e na criação de uma chave taxonômica atualizada de *Mecistogaster* com fotografias dos principais caracteres. Além disso, é sugerida a sinonimia de *Mecistogaster kesselringi*, *M. nordestina* e *M. mielkei* com *M. amalia*, assim como de *Platystigma humaita* e *P. quadratum* com *P. buckleyi*.

Palavras-chave: Libélulas. Filogenia. Genética. Monofiletismo. Morfologia. Neotrópico. Pseudostigmatidae. Taxonomia. Zygoptera.

Abstract

Pseudostigmatidae has received taxonomic attention in recent years, but there is still a need to better understand its phylogenetic position and whether it is a natural group. Furthermore, so far there is no phylogenetic hypothesis that reflects the diversity found in this family. In order to test the phylogenetic position of Pseudostigmatidae, as well as to reconstruct the relationships between the genera and species of this family, phylogenetic studies were carried out with morphological, molecular and combined morphological and molecular data. For that, the study presented a larger sampling of its internal lineages, addition of new morphological characters and reinterpretation of characters used in previous studies. The positioning of Pseudostigmatidae and the intergeneric and interspecific phylogenetic relationships of this family were inferred through Maximum Parsimony analysis with equal and implicit weighing, and through Bayesian Inference and Maximum Likelihood analyses. In the analyses to infer the position of Pseudostigmatidae, the family was diphyletic, and becomes monophyletic with the transference of *Coryphagrion grandis* to Coenagrionidae. The results of analyses with morphological data with implicit weighing and with molecular data to verify the relationships between genera and species of Pseudostigmatidae present evidence for the monophyly of *Platystigma*. Molecular data were essential to complement the elucidation of the phylogenetic relationship between the genera, although the relationship between the species of some genera remains unclear. Therefore, the inclusion of non-sampled species and other genes is suggested for a better definition of hypotheses of the relationship between species, especially *Mecistogaster* and *Platystigma*. Additionally, a taxonomic study of the species of these two genera of Pseudostigmatidae was carried out as there are species and subspecies with poorly defined taxonomic status, incompletely described and based on characters that are variable. The study resulted in the redescription of males of *Mecistogaster linearis*, *M. ornata*, *Platystigma buckleyi* and *P. jocaste*, and in the development of an updated taxonomic key of *Mecistogaster* with photographs of the main characters. Furthermore, the synonymy of *Mecistogaster kesselringi*, *M. nordestina* and *M. mielkei* with *M. amalia* is suggested, as well as of *Platystigma humaita* and *P. quadratum* with *P. buckleyi*.

Keywords: Damselflies. Phylogeny. Genetics. Monophyly. Morphology. Neotropical. Pseudostigmatidae. Taxonomy. Zygoptera.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Consenso estrito de 16 árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem igual no *software* TNT (Passos= 304, IC= 27, IR= 67) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). 40
- Figura 2.** Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das 16 árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem igual na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 41
- Figura 3.** Consenso estrito de seis árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) no *software* TNT (k= 3,126, passos= 314, IC= 26, IR= 66, *fit*= 26,72) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 44
- Figura 4.** Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das seis árvores mais parcimoniosa encontradas com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 45
- Figura 5.** Consenso estrito de três árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita usando o *script* “setk” no *software* TNT (k= 10,239, passos= 308, IC= 26, IR= 67, *fit*= 13,87) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 47
- Figura 6.** Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das três árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem implícita usando o *script* “setk” na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 48
- Figura 7.** Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Inferência Bayesiana utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* MrBayes para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 50
- Figura 8.** Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Máxima Verossimilhança utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* IQTree para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) 51
- Figura 9.** Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Inferência Bayesiana realizada no *software* MrBayes para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 52
- Figura 10.** Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Máxima Verossimilhança realizada no *software* IQTree para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 53

- Figura 11.** Consenso estrito de quatro árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem igual no *software* TNT (Passos= 181, IC= 41, IR= 73) para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) 62
- Figura 12.** Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das quatro árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem igual na análise filogenética com dados morfológicos para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 63
- Figura 13.** Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN na árvore mais parcimoniosa obtida através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) no *software* TNT (k= 1,413, passos= 185, IC= 40, IR= 72, *fit*= 24,50) para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 66
- Figura 14.** Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Inferência Bayesiana utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* MrBayes para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 69
- Figura 15.** Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Máxima Verossimilhança utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* IQTree para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 70
- Figura 16.** Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Inferência Bayesiana realizada no *software* MrBayes para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 72
- Figura 17.** Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Máxima Verossimilhança realizada no *software* IQTree para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) . 73
- Figura 18.** Parátipo macho de *Mecistogaster linearis*: A) Etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Cabeça e tórax em vista dorsal; C) Espécime em vista dorsal, com destaque para as asas; D) Tórax e segmentos abdominais 1-4 em vista lateral; E) Segmentos abdominais 8-10 e cercos em vista dorsal 80
- Figura 19.** Síntipo macho de *Mecistogaster ornata*: A) Cabeça em vista latero-dorsal e tórax em vista dorsal; B) Tórax em vista lateral; C) Pênis em vista dorsal; D) Pênis em vista lateral; E) Espécime em vista dorsal, com destaque para as asas; F) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista dorsal; G) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista lateral..... 83
- Figura 20.** Lectótipo macho de *Platystigma buckleyi*: A) Etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Tórax em vista dorsal; C) Cabeça em vista ventral e tórax em vista lateral; D) Cabeça em vista frontal; E) Espécime em vista dorsal, com destaque para o ápice da asa posterior (imagem com saturação); F) Fossa genital no

segundo segmento do abdômen; G) Segmento abdominal 10 e cercos em vista dorsal (os cercos quebraram após a realização da redescrição) 86

Figura 21. Holótipo macho de *Platystigma jocaste*: A) Espécime em vista dorsal, com destaque para o ápice da asa posterior (imagem com saturação) e etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Cabeça em vista dorsal e protórax em vista lateral; C) Tórax em vista dorsal; D) Tórax em vista lateral; E) Fossa genital no segundo segmento do abdômen com o pênis exposto; F) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista dorsal; G) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista lateral..... 88

Figura 22. Representação das características contidas na chave de identificação dos machos de *Mecistogaster*, com as setas apontando os passos. A) Pênis em vista dorsal, *M. ornata*; B) Pênis em vista dorsal, *M. amalia*; C) Asa anterior, *M. linearis*, parátipo; D) Asa anterior, *M. modesta* (F. Lencioni, Com. Pess. 2021); E) Região apical da asa anterior, *M. ornata*; F) Região apical da asa posterior, *M. lucretia*; G) Região apical da asa posterior, *M. linearis*, parátipo; H) Região apical da asa posterior, *M. amalia*; I) Cerco em vista dorsal, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019); J) Cerco em vista dorsal, *M. modesta* (F. Lencioni, Com. Pess. 2021); K) Cerco em vista lateral, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019); L) Cerco em vista lateral, *M. linearis* (Lencioni, 2017); M) Pterotórax em vista lateral, *M. lucretia* (modificado de NMNH-00388980); N) Pterotórax em vista lateral, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019)..... 91

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Espécimes que tiveram o DNA extraído para os estudos filogenéticos com dados moleculares da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e o número de registro da coleção onde o material está depositado..... 26
- Tabela 2.** Primers usados para a amplificação das amostras utilizadas nos estudos filogenéticos com dados moleculares 27
- Tabela 3.** Matriz de caracteres usada na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) 38
- Tabela 4.** Valores de similaridade (movimentos SPR) produzidos pela comparação das topologias de 11 conjuntos de árvores mais parcimoniosas (fornecidas pelo *script* desenvolvido por Mirande em 2009) usando o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 42
- Tabela 5.** Valor de k para cada um dos 11 conjuntos de árvores gerado pelo *script* desenvolvido por Mirande (2009) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 43
- Tabela 6.** Espécimes que tiveram o DNA extraído para os estudos filogenéticos com dados moleculares das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e o número de registro da coleção onde o material está depositado 56
- Tabela 7.** Matriz de caracteres usada na análise filogenética com dados morfológicos para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) 60
- Tabela 8.** Valores de similaridade (movimentos SPR) produzidos pela comparação das topologias de 11 conjuntos de árvores mais parcimoniosas (fornecidas pelo *script* desenvolvido por Mirande em 2009) usando o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) para a reconstrução das relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera)..... 64
- Tabela 9.** Valor de k para cada um dos 11 conjuntos de árvores gerado pelo *script* desenvolvido por Mirande (2009) para a reconstrução das relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). 65

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO 1 Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) utilizando dados morfológicos e moleculares	19
RESUMO	19
1 INTRODUÇÃO	20
<i>Estudo 1 Posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) utilizando dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados</i>	22
2 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1 Filogenia com dados morfológicos	22
2.1.1 Obtenção de dados morfológicos	22
2.1.2 Estudo da morfologia e terminologia morfológica.....	23
2.1.3 Construção dos caracteres	23
2.1.4 Análise filogenética com dados morfológicos	24
2.2 Filogenia com dados moleculares	25
2.2.1 Obtenção de dados moleculares	25
2.2.2 Tratamento dos dados moleculares	27
2.2.3 Análise filogenética com dados moleculares	28
2.2.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1 Matriz de dados morfológicos.....	29
3.2 Análise filogenética com dados morfológicos	40
3.3 Análise filogenética com dados moleculares	49
3.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados.....	52
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
<i>Estudo 2 Relações filogenéticas entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) com base em dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados</i>	55
5 MATERIAL E MÉTODOS	55
5.1 Filogenia com dados morfológicos	55
5.1.1 Obtenção de dados morfológicos	55
5.1.2 Estudo da morfologia e terminologia morfológica.....	55
5.1.3 Construção dos caracteres	55

5.1.4	Análise filogenética com dados morfológicos	56
5.2	Filogenia com dados moleculares	56
5.2.1	Obtenção de dados moleculares	56
5.2.2	Tratamento dos dados moleculares	56
5.2.3	Análise filogenética com dados moleculares	57
5.2.4	Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados	57
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
6.1	Matriz de dados morfológicos.....	57
6.2	Análise filogenética com dados morfológicos	62
6.3	Análise filogenética com dados moleculares	69
6.4	Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados.....	72
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
	CAPÍTULO 2 Taxonomia de <i>Mecistogaster</i> Rambur, 1842 e <i>Platystigma</i> Kennedy, 1920 (Odonata, Zygoptera, Pseudostigmatidae)	75
	RESUMO	75
8	INTRODUÇÃO	75
9	MATERIAL E MÉTODOS	76
10	RESULTADOS	77
10.1	Redescrição	77
10.1.1	<i>Mecistogaster linearis</i> (Fabricius, 1777).....	77
10.1.2	<i>Mecistogaster ornata</i> Rambur, 1842.....	81
10.1.3	<i>Platystigma buckleyi</i> (McLachlan, 1881).....	83
10.1.4	<i>Platystigma jocaste</i> (Hagen, 1869)	86
11	DISCUSSÃO	93
12	CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
	REFERÊNCIAS	94
	ANEXOS	104

INTRODUÇÃO GERAL

A ordem Odonata (Insecta, Pterygota, Palaeoptera) contém mais de 6.300 espécies descritas (Paulson & Schorr, 2020) ocorrentes em todos os continentes, exceto na Antártica. Essa ordem compreende três subordens: Zygoptera (33 famílias), Anisoptera (12 famílias) e Anisozygoptera (1 família) (Bybee *et al.*, 2021) que são popularmente conhecidas como libélula, donzelinha, lava-bunda, jacinta, helicóptero, dentre outros nomes (Souza *et al.*, 2007; Brasil & Vilela, 2019).

O ciclo de vida desses insetos inclui uma fase imatura aquática (ninfa), sendo poucas ninfas terrestres, e uma fase madura terrestre-aérea (adulto) (Suhling *et al.*, 2015). As ninfas se desenvolvem em ambientes aquáticos lênticos, lóticos, ou em fitotelmatas no caso de alguns Zygoptera. Odonata possui características únicas no Reino Animal. Uma delas é a modificação do lábio da ninfa em uma estrutura prênscil e protrátil (chamada de máscara labial) altamente especializada e eficiente para a captura de presas. A outra é o mecanismo de transferência indireta e externa do gameta masculino de onde é produzido (abertura genital no segmento 9) para o órgão copulatório no segmento abdominal 2 ou 3, este que não é homólogo a qualquer outro órgão no Reino Animal (Tillyard, 1917). Por consequência disso, o macho e a fêmea apresentam um comportamento de cópula diferente e peculiar (Corbet, 1962).

As ninfas de Zygoptera são caracterizadas por possuírem corpo alongado e três brânquias lamelares caudais, e os adultos possuem asas similares, olhos separados e normalmente pousam com asas fechadas (Souza *et al.*, 2007). As ninfas de Anisoptera apresentam corpo robusto, não possuem brânquias caudais, porém têm cinco apêndices caudais, e comumente têm espinhos abdominais (Souza *et al.*, 2007). Já os adultos apresentam asas anteriores e posteriores com formatos diferentes, olhos juntos e normalmente pousam com as asas abertas (Souza *et al.*, 2007). As ninfas de Anisozygoptera são morfologicamente similares às ninfas de Anisoptera (St. Quentin & Beier, 1968). Já em relação aos adultos, Anisozygoptera possui características morfológicas das outras duas subordens. As asas anteriores e posteriores são similares às asas de Zygoptera, e assim como em Zygoptera fecham as asas quando em repouso, e o formato do corpo e apêndices caudais são semelhantes aos de Anisoptera (St. Quentin & Beier, 1968).

Tanto as ninfas quanto os adultos possuem hábitos predatórios exclusivamente de presas vivas (Corbet, 1980), sendo importantes na regulação de superpopulações de mosquitos vetores de doenças (Corbet, 1999). Além disso, são importantes bioindicadores de qualidade de água (Corbet, 1999). Entretanto, as ninfas ainda são pouco conhecidas e estudadas, o que gera uma lacuna considerável em trabalhos ecológicos, taxonômicos e filogenéticos. Dentre os desafios encontrados para o estudo das ninfas estão: 1) descrição das ninfas precisam ser atualizadas e a falta de chaves para as ninfas dificultam a identificação; 2) dificuldade de coletá-las em seu último estágio de desenvolvimento, quando é possível realizar a sua identificação ou descrição; e 3) criação desses organismos em laboratório até a emergência do adulto. Essa lacuna do conhecimento das ninfas também se aplica às fêmeas já que em alguns gêneros a identificação das fêmeas só é possível quando coletada em cópula com o macho. Algumas espécies de fêmeas são morfologicamente similares entre si e sem um estudo detalhado da sua morfologia a partir

da sua associação com o macho se torna inviável a sua identificação e o seu uso em estudos filogenéticos.

Zygoptera é a subordem mais bem estudada atualmente em todos os aspectos da biologia (história natural, evolução, taxonomia, filogenia), especialmente a superfamília Coenagrionoidea Kirby, 1890, maior superfamília da subordem e que recebeu maior atenção nos últimos anos (O'Grady & May, 2003; Carle *et al.*, 2008; Pessacq, 2008). Essa superfamília era constituída por Coenagrionidae, Protoneuridae, Platycnemididae e Pseudostigmatidae (Bybee *et al.*, 2008; Carle *et al.*, 2008). Porém, na última classificação de Dijkstra *et al.* (2013) foi sugerida a inclusão de Pseudostigmatidae e Protoneuridae como subfamílias de Coenagrionidae, e Isostictidae foi adicionada em Coenagrionoidea, reorganização proposta por Dijkstra *et al.* (2014). Portanto, na classificação mais atual Coenagrionoidea é composta por Coenagrionidae, Isostictidae e Platycnemididae, representando aproximadamente 60% de todas as espécies de Zygoptera (Dijkstra *et al.*, 2014). As ninfas dessa superfamília são caracterizadas por possuírem a borda anterior do premento inteira ou quase inteira e palpos com presença de cerdas (presentes também em Lestidae) (Dijkstra *et al.*, 2014). Os adultos compartilham a venação das asas simplificada em comparação com outros grupos que apresentam veias longitudinais adicionais (Dijkstra *et al.*, 2014). Dentre essas famílias, Coenagrionidae é a mais diversa, sendo a subfamília Pseudostigmatinae (segundo a proposta de Dijkstra *et al.*, 2014) a única composta por libélulas florestais (Fincke & Hedström, 2008). Apesar dessa classificação recente, o presente estudo tratará Pseudostigmatidae como uma família.

Pseudostigmatidae é representada por 24 espécies, em 7 gêneros, sendo seis gêneros exclusivos do neotrópico (*Anomisma* McLachlan, 1877, *Mecistogaster* Rambur, 1842, *Megaloprepus* Rambur, 1842, *Microstigma* Rambur, 1842, *Pseudostigma* Selys, 1860 e *Platystigma* Kennedy, 1920) e um gênero africano *Coryphagrion* Morton, 1924 restrito às florestas do Quênia, Tanzânia e Moçambique (Machado & Soldati, 2017). Recentemente, o gênero monotípico *Megaloprepus* foi questionado, podendo se tratar de um complexo de espécies. Feindt *et al.* (2014); Fincke *et al.*, 2018 e Feindt (2019) apresentaram evidências para o estabelecimento de mais de uma espécie no gênero. O formato, tamanho e posição das regiões coloridas nas asas de *Megaloprepus*, o formato da dobra na base do segmento III do pênis, o formato do protórax e dos cercos dos machos, assim como medidas de diferenciação genética, aliadas à distribuição e história evolutiva permitiram classificar o gênero em quatro espécies (Feindt *et al.*, 2014; Feindt, 2019): a espécie nominal *M. caerulatus*; duas espécies previamente descritas por Selys (1860), posteriormente consideradas como subespécies por Steinmann (1997) e Heckman (2008) e que foram reerguidas a nível de espécie (*M. brevistigma* e *M. latipennis*); e uma possível espécie nova que ainda não foi publicada (Feindt, 2019).

Os pseudostigmatídeos possuem comportamento de oviposição em fitotelmata, como em água acumulada em orifícios nos troncos de árvores, colmos de bambu ou tanques de bromélias (Corbet, 1983). Além disso, possuem um comportamento alimentar exclusivo ao capturar aranhas e as presas das aranhas diretamente nas teias (Fincke, 1984). Quando em pouso ficam com o abdômen pendente (Carvalho e Calil, 2000). A posição filogenética de Pseudostigmatidae dentro de Zygoptera permanece incerta, mesmo após pesquisas filogenéticas recentes (Dijkstra *et al.*, 2014), assim como as relações filogenéticas entre todos os gêneros e espécies são desconhecidas.

CAPÍTULO 1 Relações filogenéticas de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) utilizando dados morfológicos e moleculares

RESUMO

Pseudostigmatidae tem recebido atenção taxonômica nos últimos anos, porém ainda há a necessidade de compreender com maior segurança o seu posicionamento filogenético e se é um grupo natural. Além disso, não há até agora uma hipótese filogenética que reflita a diversidade encontrada nessa família. Com o intuito de testar a posição filogenética de Pseudostigmatidae, assim como reconstruir as relações entre os gêneros e espécies desta família, foram realizados estudos filogenéticos com dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados (Mor-Mol). Para isso, o estudo apresentou uma maior amostragem de suas linhagens internas, adição de novos caracteres morfológicos e reinterpretação de caracteres usados em trabalhos anteriores. O posicionamento de Pseudostigmatidae e as relações filogenéticas intergenéricas e interespecíficas dessa família foram inferidos através da análise de Máxima Parcimônia (MP) com pesagem igual e implícita, e por meio de análises de Inferência Bayesiana (IB) e Máxima Verossimilhança (MV). Nas análises para inferir o posicionamento de Pseudostigmatidae, a família resultou difilética, e se torna monofilética com a transferência de *Coryphagrion grandis* para Coenagrionidae. Os resultados das análises com dados morfológicos com pesagem implícita e com dados moleculares para verificar as relações entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae apresentam evidências para a monofilia de *Platystigma*. Este é o primeiro trabalho que possui representatividade de todos os gêneros de Pseudostigmatidae e sugere a sua monofilia, com base em três conjuntos de dados distintos. Os dados moleculares foram essenciais para complementar a elucidação do relacionamento entre os gêneros, apesar do relacionamento entre as espécies de alguns gêneros ainda permanecerem dúbios. Portanto, sugere-se a inclusão de espécies não amostradas e de outros genes para uma melhor definição de hipóteses do relacionamento entre as espécies, especialmente de *Mecistogaster* e *Platystigma*.

Palavras-chave: genética, monofiletismo, morfologia, filogenia, libélulas, Zygoptera.

ABSTRACT

Pseudostigmatidae has received taxonomic attention in recent years, but there is still a need to better understand its phylogenetic position and whether it is a natural group. Furthermore, so far there is no phylogenetic hypothesis that reflects the diversity found in this family. In order to test the phylogenetic position of Pseudostigmatidae, as well as to reconstruct the relationships between the genera and species of this family, phylogenetic studies were carried out with morphological, molecular and combined morphological and molecular data (Mor-Mol). For that, the study presented a larger sampling of its internal lineages, addition of new morphological characters and reinterpretation of characters used in previous studies. The positioning of Pseudostigmatidae and the intergeneric and interspecific phylogenetic relationships of this family were inferred through Maximum Parsimony (MP) analysis with equal and implicit weighing, and through Bayesian Inference (IB) and Maximum Likelihood (MV) analyses. In the analyses to infer the position of Pseudostigmatidae, the family was diphyletic, and becomes monophyletic with the transference of *Coryphagrion grandis* to Coenagrionidae. The results of analyses with morphological data with implicit weighing

and with molecular data to verify the relationships between genera and species of Pseudostigmatidae present evidence for the monophyly of *Platystigma*. This is the first study that has sample all Pseudostigmatidae genera and suggests its monophyly, based on three distinct datasets. Molecular data were essential to complement the elucidation of the phylogenetic relationship between the genera, although the relationship between the species of some genera remains unclear. Therefore, the inclusion of non-sampled species and other genes is suggested for a better definition of hypotheses of the relationship between species, especially *Mecistogaster* and *Platystigma*.

Keywords: genetics, monophyly, morphology, phylogeny, damselflies, Zygoptera.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas houve um considerável progresso na sistemática de Odonata, especialmente pela inclusão de dados moleculares. Apesar desse avanço, as relações entre as famílias de Zygoptera, principalmente, permanecem incertas (Costa *et al.*, 2012). As relações filogenéticas de alguns grupos que compõem Coenagrionoidea demonstram que há uma grande diversidade de hipóteses sobre como os táxons se relacionam. Em particular, hipóteses das relações filogenéticas com dados morfológicos entre as famílias Coenagrionidae, Protoneuridae e Pseudostigmatidae, são baseadas em caracteres que não estavam bem definidos e as relações de muitos táxons não foram resolvidas (O’Grady & May, 2003 e Rehn, 2003). Nos estudos moleculares (Carle *et al.*, 2008, Dumont *et al.*, 2010 e Dijkstra *et al.*, 2014) os resultados revelaram relacionamentos inesperados, sendo que o estudo de Dijkstra *et al.* (2014) foi composto por uma extensa amostragem e foi uma das maiores contribuições filogenéticas de Zygoptera.

Os limites de Pseudostigmatidae são uma das questões centrais no estudo dos Coenagrionoidea. Nas relações filogenéticas apresentadas por Bybee *et al.* (2008), Carle *et al.* (2008) e Dijkstra *et al.* (2014), Coenagrionidae é polifilética e Pseudostigmatidae é monofilética. Em Bybee *et al.* (2008) Pseudostigmatidae é grupo-irmão de um dos clados de Coenagrionidae, e em Carle *et al.* (2008) e Dijkstra *et al.* (2014) Pseudostigmatidae é grupo-irmão de uma espécie de Coenagrionidae. Nestes dois últimos estudos os autores sugeriram *Bromeliagrion*, *Diceratobasis* e *Leptobasis* como gêneros proximalmente relacionados a Pseudostigmatidae ou a inclusão desses gêneros dentro dessa família. Em O’Grady & May (2003) e Dumont *et al.* (2010), Coenagrionidae é polifilética e Pseudostigmatidae foi representada por uma única espécie, que no primeiro estudo se posicionou como táxon-irmão de Lestidae e no segundo estudo está aninhada em Coenagrionidae. Na filogenia encontrada por Rehn (2003), Coenagrionidae se encontra em uma tricotomia com Pseudostigmatidae e outras famílias.

Baseado em dados moleculares, Carle *et al.* (2008) encontraram os táxons de Coenagrionidae separados em dois grupos-irmãos - um composto por táxons que apresentam a fronte da cabeça angulada (chamado de “ridge-faced Coenagrionidae” por Dijkstra *et al.*, 2014), e outro composto por aqueles que apresentam a fronte da cabeça arredondada (chamado de “core Coenagrionidae” por Dijkstra *et al.*, 2014). Protoneuridae não foi recuperada como monofilética em nenhuma dessas análises citadas anteriormente, assim como em Pessacq (2008), e foi separada em duas linhagens: Protoneuridae do “Velho Mundo” (Disparoneurinae *sensu* Fraser, 1957), representada por espécies

distribuídas nas regiões Paleártica, Etiópica e Australiana; e Protoneuridae do “Novo Mundo” (Protoneurinae *sensu* Jacobson & Bianchi, 1905), clado composto por espécies distribuídas nas regiões Neártica e Neotropical. Protoneuridae do “Velho Mundo” está mais proximamente relacionada à Platycnemididae (Bybee *et al.*, 2008; Carle *et al.*, 2008), e em Dijkstra *et al.* (2014) a linhagem do Velho Mundo foi incorporada em Platycnemididae como Disparoneurinae. A linhagem americana possui uma posição incerta em Bybee *et al.* (2008), porém Dijkstra *et al.* (2014) sugerem Protoneuridae do “Novo Mundo” e Pseudostigmatidae como subfamílias de Coenagrionidae.

Além disso, há questionamentos sobre a posição filogenética de *Coryphagrion grandis* Morton, 1924. No estudo de Groeneveld *et al.*, 2007; Ingley *et al.*, 2012 e Feindt *et al.*, 2014, *C. grandis* é considerado representante de Pseudostigmatidae, nos quais ela aparece como táxon-irmão de todos os outros pseudostigmatídeos. Já Toussaint *et al.* (2019) sugerem *C. grandis* como parte de Coenagrionidae.

Pseudostigmatidae foi descrita como uma nova divisão Pseudostigmatina por Kirby (1890) e foi elevada a nível de subfamília por Munz (1919). A subfamília Pseudostigmatinae era composta apenas por *Anomisma*, *Pseudostigma* e *Megaloprepus*, caracterizada por mais de uma fileira de células entre a veia CuA e a margem anal da asa e cercos reduzidos. Posteriormente, Tillyard & Fraser (1938) elevaram Pseudostigmatinae a nível de família. Bechly (1995) apresentou *Anomisma*, *Mecistogaster*, *Pseudostigma*, *Microstigma* e *Megaloprepus* como representantes de Pseudostigmatidae. Nesse mesmo trabalho, indicou uma família monoespecífica Coryphagrionidae composta apenas por *Coryphagrion grandis* já que essa espécie possuía características morfológicas exclusivas, não compartilhadas pelos representantes de outras famílias. Bechly (1996) criou a subfamília Mecistogastrinae, representada apenas pelo gênero-tipo *Mecistogaster*, caracterizada por ninfas com as brânquias caudais fortemente pedunculadas.

A classificação mais aceita atualmente para Coenagrionoidea foi proposta por Dijkstra *et al.* (2014) e divide a superfamília em três famílias: Isostictidae, Platycnemididae e Coenagrionidae. Coenagrionidae *sensu* Kirby, 1890 é a família com maior representatividade, composta por seis subfamílias (Agriocnemidinae, Ischnurinae, Pseudagrioninae, Protoneurinae, Pseudostigmatinae e Teinobasinae), 115 gêneros (Dijkstra *et al.*, 2014) e 1.358 espécies (Paulson & Schorr, 2020). Apesar dessa classificação ser aceita e utilizada, os resultados filogenéticos são conflitantes entre os diferentes estudos citados anteriormente.

Com o intuito de obter hipóteses filogenéticas robustas, o presente estudo adicionou táxons não usados anteriormente, principalmente neotropicais e novos caracteres morfológicos e moleculares, assim como foi feita uma revisão dos caracteres já utilizados na literatura. Assim, este estudo propõe: 1) inferir a posição filogenética de Pseudostigmatidae em relação à Coenagrionidae e Protoneuridae e 2) reconstruir as relações filogenéticas entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae, utilizando dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados. Cada uma dessas hipóteses está apresentada respectivamente no *Estudo 1* e no *Estudo 2* deste capítulo.

Estudo 1 Posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) utilizando dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Filogenia com dados morfológicos

2.1.1 Obtenção de dados morfológicos

O material examinado está depositado nas seguintes instituições, com seus respectivos curadores:

CCT-UFMG – Coleção A.B.M. Machado do Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil – Dr. Fernando A. Silveira;

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil – Dr. Márcio Luíz de Oliveira;

NHM – Natural History Museum, Londres, Reino Unido – Dr. Benjamin Price;

UFPA – Laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil – Dr. Leandro Juen;

UFPR – Laboratório de Sistemática de Insetos Aquáticos da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil – Dr. Ângelo P. Pinto;

Novos exemplares foram obtidos por coletas realizadas nos estados brasileiros do Acre, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais e Pará. Todos os espécimes coletados foram depositados no CCT-UFMG.

Definiu-se como grupo interno representantes de Coenagrionidae das distintas subfamílias propostas por Dijkstra *et al.* (2014), Protoneuridae e Pseudostigmatidae a fim de verificar suas posições filogenéticas. Para isso foram escolhidos representantes de pelo menos um gênero de cada clado dentro de cada uma das famílias, segundo a filogenia apresentada por Dijkstra *et al.* (2014), incluindo preferencialmente aqueles mais distantes filogeneticamente e/ou biogeograficamente. Quando o gênero não era monotípico e havia material disponível foram incluídas pelo menos duas espécies de cada gênero. Alguns gêneros do grupo interno, especialmente neotropicais, não amostrados em filogenias com dados morfológicos anteriores, foram incluídos no presente estudo como *Bromeliagrion*, *Epipleoneura*, *Franciscobasis*, *Inpabasis*, *Ischnura*, *Minagrion*, *Phoenicagrion* e *Tuberculobasis*.

Foram selecionados 67 táxons terminais, sendo onze dos grupos externos e 56 do grupo interno. Os grupos externos compreenderam representantes de Lestidae, Calopterygidae, Megapodagrionidae, Platycnemididae e Protoneuridae do “Velho Mundo”. Pelo menos dois gêneros de cada família dos grupos externos foram amostrados, segundo a filogenia de Dijkstra *et al.* (2014). O enraizamento da árvore foi feito em *Lestes pictus* (Lestidae). Sempre que possível, a amostragem conteve o gênero-tipo da família e a espécie-tipo de cada gênero tanto para o grupo interno, quanto para os grupos externos, assim como o macho e a fêmea das espécies selecionadas. O material examinado está listado no Anexo 1.

2.1.2 Estudo da morfologia e terminologia morfológica

As estruturas externas dos adultos foram estudadas sob microscópio estereoscópico. Para o estudo do pênis, o espécime seco foi colocado por algumas horas na câmara úmida e após a sua rehidratação, o pênis foi exposto com o auxílio de um micro alfinete. Para a secagem do material, este foi mantido na estufa de um a dois dias de acordo com o tamanho do espécime. O pênis de algumas espécies de Pseudostigmatidae foram estudados através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), no Laboratório de Microscopia Eletrônica da PUC-Minas do departamento de Engenharia Metalúrgica. Para o procedimento de MEV, as estruturas já desidratadas foram metalizadas com ouro no Centro de Microscopia Eletrônica da PUC-Minas. As imagens foram feitas no mesmo local utilizando o equipamento JEOL, modelo JSM-IT300.

Fotografias dos espécimes estudados depositados no CCT-UFMG foram feitas no Laboratório de Herpetologia da UFMG usando o microscópio Leica M205A, equipada com iluminação LED 5000-RL e as imagens multifocais foram montadas através do *software* Leica Application Suite (LAS) 4.1. Fotografias dos espécimes estudados depositados no NHM foram feitas utilizando a câmera Canon EOS 5D.

A terminologia adotada para a asa de Zygoptera seguiu a proposta de Riek & Kukalova-Peck (1984), modificada por Rehn (2003). As partes do pênis foram nomeadas seguindo Kennedy (1916) e Soldati & Machado (2019). A terminologia usada para a placa mesostigmal seguiu Battin (1993) e Moulton *et al.* (1987). Foram utilizadas as seguintes abreviaturas para o estudo morfológico das estruturas: FW, asa anterior; HW, asa posterior; Pt, pterostigma; Ps, pseudostigma; Ax, veias antenodais; Px, veias pós-nodais; RA, radial anterior; RP, radial posterior; RP₁, radial posterior 1; RP₂, radial posterior 2; RP₃, radial posterior 3; IR₁, intercalar 1; IR₂, intercalar 2; MA, medial anterior; MP, medial posterior; CuA, cubital anterior; CuP, cubital posterior; CuP&AA, veia anal; S1–10, segmentos abdominais 1 a 10. A indicação das principais estruturas do tórax, asas e genitália de Zygoptera estão disponíveis no Anexo 12.

2.1.3 Construção dos caracteres

Alguns dos caracteres analisados foram obtidos ou modificados de O'Grady & May (2003), Pessacq (2008) e Rehn (2003). Esses caracteres disponíveis na literatura estão referenciados na lista de caracteres. Os caracteres modificados envolveram a reinterpretação do estabelecimento de homologies, a separação de caracteres dimórficos e a separação de um caráter com estados neomórficos e transformacionais em dois ou mais caracteres, de acordo com Sereno (2007). Além disso, alguns caracteres retirados da literatura tiveram seus estados reescritos para facilitar o entendimento. Novos caracteres foram construídos durante o estudo dos espécimes e adicionados à lista de caracteres. Os caracteres foram tratados como não ordenados e foram codificados de acordo com o método de contingência (Maddison, 1993; Hawkins *et al.*, 1997). O programa Mesquite 3.61 (Maddison & Maddison, 2019) foi usado para construir e editar a matriz de caracteres.

A codificação dos caracteres das libélulas que estavam com alguma estrutura ausente, danificada, sem possibilidade de visualização, ou caso não tivesse acesso a um dos sexos da espécie, foi baseada na literatura, quando disponível (Battin, 1993; De Marmels, 1984;

De Marmels & Garrison, 2005; Dijkstra, 2016; Garrison, 1986; Garrison *et al.*, 2010; Kennedy, 1919; Kimmins, 1931; Lencioni, 2005; Lencioni, 2017; Machado, 2009; Machado & Soldati, 2017; Morton, 1924; Pessacq, 2014; Rehn, 2003; Santos, 1957; Santos, 1979; Schmidt, 1951; von Ellenrieder & Garrison, 2017 e Westfall & May, 2006). Quando não disponíveis na literatura esses caracteres foram tratados como dados faltantes. Os estados dos caracteres foram indicados com siglas de acordo com a literatura usada para as codificações. Caracteres inaplicáveis foram indicados com “-”, caracteres que não puderam ser analisados foram considerados como dados faltantes, indicados com “?” e os caracteres polimórficos foram apresentados com “0&1” na matriz de caracteres. Caracteres autapomórficos foram excluídos, já que eles não são informativos em análises de parcimônia (Schuh & Brower, 2009).

2.1.4 Análise filogenética com dados morfológicos

A matriz de dados foi empregada para a análise filogenética de Máxima Parcimônia (MP), analisada no *software* TNT 1.5 (Tree Analysis Using New Technology) (Goloboff *et al.*, 2003; Goloboff *et al.*, 2008a). Para a procura das árvores ótimas foram utilizados os seguintes procedimentos: 999999 árvores salvas na memória; busca heurística de árvores usando uma árvore de Wagner como árvore inicial seguido por bissecção e reconexão pelo método de Tree Bisection Reconnection (TBR) com 10 replicações de TBR, salvando 200 árvores por replicação e “random seed”=1. De acordo com o *default* do TNT, foram colapsados os ramos com comprimento igual a zero diante as reconstruções alternativas mais parcimoniosas. As árvores resultantes dessa busca inicial foram submetidas a mais um ciclo de TBR. As buscas foram feitas usando pesagem igual e pesagem implícita (Goloboff, 1993; Goloboff *et al.*, 2008b).

A pesagem implícita aplica uma pontuação para cada caráter de acordo com seu grau de homoplasia, ou seja, fortalece os caracteres menos homoplásicos e penaliza as homoplasias, diminuindo o peso dos caracteres à medida que aumenta o número de passos extras. O cálculo do peso é feito a partir de uma curva côncava, cujo formato é delimitado por uma constante “k” (Goloboff, 1993).

Para a escolha do valor de k (constante de concavidade) foram usados dois *scripts* que usam métodos de busca diferentes: 1) desenvolvido por Mirande (2009) e utilizado juntamente com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020), e 2) *script* “setk”, escrito por Salvador Arias.

O *script* desenvolvido por Mirande (2009) utiliza o critério de similaridade para a escolha das árvores dentre o conjunto de árvores mais parcimoniosas sob diferentes valores de k, sendo as árvores que possuem topologias similares entre si consideradas as mais estáveis. A procura por valores de k que geram árvores com maior similaridade poderia provocar uma tendência na busca, já que valores de k mais baixos resultam em árvores mais distintas e valores de k mais altos resultam em árvores mais similares entre si. Sendo assim, os parâmetros usados no *script* criam 11 conjuntos de árvores produzidos por 11 valores de k distintos, escolhidos em intervalos regulares. As buscas sob cada valor de k são realizadas até o melhor *fit* ser obtido três vezes, o que oferece maior confiança de terem sido encontradas árvores “ótimas”. O *script* desenvolvido por Mirande (2009) realiza a busca das árvores usando o método ‘New Technology Search’ implementado para o TNT. Detalhes podem ser encontrados no *script* “aaa.run” (Mirande, 2009).

O *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) exporta os valores de similaridade baseados nos movimentos SPR (Subtree-Pruning-Regrafting) (Goloboff, 2008) produzidos pela comparação das topologias dos 11 conjuntos de árvores mais parcimoniosas (fornecidas pelo *script* desenvolvido por Mirande em 2009). Quanto menor o valor de movimentos SPR, menor o número de rearranjos, e portanto, mais estáveis e similares são as topologias, o que define o melhor valor de *k*. O *script* desenvolvido por Mirande (2009) pode fornecer mais de um valor de *k* “ótimo” após verificação da distância SPR. Segundo Farris (1983) e Goloboff (1993) a hipótese mais parcimoniosa é aquela com o maior poder de explicação dos dados, ou seja, aquela com o maior *fit*, dado os pesos que cada caráter merece. Portanto, quando fornecido mais de um valor de *k* “ótimo”, o valor de *k* escolhido foi aquele que possuía um conjunto de árvores com maior *fit*. O consenso das árvores recuperado com o maior *fit* foi usado como referência.

Já o *script* “setk”, implementado para o TNT, experimenta uma faixa de valores de *k* no qual o número máximo possível de passos extras dos caracteres homoplásicos não pode exceder certo valor e sugere um valor de *k* “ótimo” para o conjunto de dados em estudo (Goloboff, 2008b). As buscas das árvores foram feitas usando os mesmos procedimentos descritos para a pesagem igual.

Para a análise com pesagem implícita, o suporte dos ramos foi estimado através do suporte relativo de Bremer baseado no cálculo das diferenças de *fit* relativo entre as árvores ótimas e as árvores subótimas (Goloboff & Farris, 2001). Inicialmente foi realizada uma rodada com diferença de *fit* de 0,01, retendo 3.000 árvores. Outros nove ciclos foram rodados, aumentando a diferença de *fit* em 10 unidades (0,10 a 0,90) e adicionando 3.000 árvores na memória a cada ciclo, o que totalizou 30.000 árvores na memória no último ciclo. Detalhes podem ser encontrados no *script* “bremerd.run” (Anexo 2), modificado do *script* criado por Castro-Huertas *et al.* (2020).

Para a análise com pesagem igual o suporte dos ramos foi estimado através do suporte absoluto de Bremer (Bremer, 1994). Para isso, as árvores resultantes foram submetidas a um novo ciclo de TBR para a obtenção das árvores subótimas. Além deste suporte, em ambas as análises (pesagem igual e implícita) foi apresentado o suporte dos ramos por meio da reamostragem padrão do Bootstrap (Felsenstein, 1985) com 1.000 replicações.

Os suportes de Bremer e Bootstrap foram representados no consenso das árvores resultantes. Os modelos de otimização ACCTRAN (Accelerated Transformation) (Swofford & Maddison, 1987) e DELTRAN (Delayed Transformation) (Swofford & Maddison, 1987) foram aplicados para cada caráter da árvore, através da plataforma Winclada 1.61 (Nixon, 2002). Porém, as transformações dos estados de caráter foram mapeadas na árvore escolhida usando apenas um dos modelos e as diferenças verificadas entre os dois métodos de otimização nos clados de maior interesse foram apresentadas na discussão.

2.2 Filogenia com dados moleculares

2.2.1 Obtenção de dados moleculares

Para a análise com dados moleculares foi usado material fresco obtido de coletas nos estados brasileiros do Acre, Bahia, Minas Gerais e material doado pelo Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução da Universidade Federal de São Carlos, SP,

Brasil (UFSCar), assim como sequências depositadas no GenBank. Foram usados dois genes mitocondriais, 16S rRNA e Citocromo Oxidase subunidade 1 (COI) e um gene nuclear, 28S rRNA. Esses marcadores foram utilizados anteriormente para as libélulas por Bybee *et al.* (2008) para testar a monofilia das subordens de Odonata e suas famílias, assim como as relações filogenéticas entre as famílias; por Carle *et al.* (2008) para construir a filogenia de Odonata, com ênfase no relacionamento entre os Coenagrionoidea; e por Dijkstra *et al.* (2014) para a reconstrução filogenética das relações entre as famílias de Zygoptera.

A extração e a amplificação foram realizadas no Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular (LBEM), UFMG. A extração de DNA foi feita da musculatura retirada de uma ou duas pernas de 13 espécimes de Odonata (Tabela 1.) seguindo o protocolo de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) disponível em <http://labs.icb.ufmg.br/lbem/protocolos/extracao.html>.

Tabela 1. Espécimes que tiveram o DNA extraído para o estudo filogenético com dados moleculares da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e o número de registro da coleção onde o material está depositado. CCT-UFMG= Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; LESTES= Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução, UFSCar, São Carlos

Táxon	Número de registro
<i>Acanthagrion gracile</i>	IOD1800012 (CCT-UFMG)
<i>Heteragrion aurantiacum</i>	IOD2000008 (CCT-UFMG)
<i>Ischnura capreolus</i>	DS02 (LESTES)
<i>Mecistogaster ornata</i>	IOD1800095 (CCT-UFMG)
<i>Metaleptobasis bicornis</i>	DS04 (LESTES)
<i>Minagrion waltheri</i>	DS03 (LESTES)
<i>Mnesarete pudica</i>	IOD1800054 (CCT-UFMG)
<i>Nehalennia minuta</i>	IOD2000007 (CCT-UFMG)
<i>Neoneura sylvatica</i>	IOD1800128 (CCT-UFMG)
<i>Oxyagrion terminale</i>	IOD1800063 (CCT-UFMG)
<i>Platystigma buckleyi</i>	IOD1800099 (CCT-UFMG)
<i>Protoneura scintilla</i>	IOD2000009 (CCT-UFMG)
<i>Telebasis corallina</i>	IOD2000010 (CCT-UFMG)

As PCRs (Reações em Cadeia da Polimerase) foram executadas com um volume final de 15µL (13µL de pré-mix e 2µL de DNA, considerando que amostras não amplificadas foram novamente analisadas usando a quantidade de 11µL de pré-mix e 4µL de DNA), usando a Taq Platinum (Thermo Fisher). O pré-mix foi composto por ddH₂O, tampão de reação, dNTPs, MgCl₂, primers e Taq Polimerase. O DNA não foi diluído, pois as amostras apresentavam baixa quantidade deste. Os primers utilizados na amplificação, suas sequências e o tamanho dos fragmentos estão apresentados na Tabela 2.

Três condições diferentes de PCR foram usadas com modificações nos ciclos de amplificação do protocolo de Dijkstra *et al.* (2014): 1) para 16S, desnaturação inicial a 94°C por 3min, 37 ciclos de amplificação (94°C por 15s, 54°C por 30s sendo que a cada

dois ciclos diminui 1°C até atingir a temperatura de 48°C a qual se manteve por 25 ciclos, e 72°C por 40s) e extensão final a 72°C por 5 min; 2) para 28S, desnaturação inicial a 94°C por 3min, 37 ciclos de amplificação (94°C por 15s, 59°C por 30s sendo que a cada dois ciclos diminui 1°C até atingir a temperatura de 54°C e os últimos 25 ciclos se mantiveram à 50°C [para algumas amostras foi usada a temperatura de 57°C por 30s sendo que a cada dois ciclos diminui 1°C até atingir 52°C e os últimos 25 ciclos se mantiveram à 48°C], e 72°C por 1 min) e extensão final a 72°C por 5 min; 3) para COI, desnaturação inicial a 94°C por 3min, 37 ciclos de amplificação (94°C por 15s, 52°C por 30s sendo que a cada dois ciclos diminui 1°C até atingir a temperatura de 46°C a qual se manteve por 25 ciclos, e 72°C por 40s) e extensão final a 72°C por 5 min.

O produto de PCR foi submetido a gel de agarose 1% para eletroforese a fim de verificar as amostras que tiveram suas amplificações positivas para os tamanhos esperados dos fragmentos. As amostras amplificadas corretamente foram purificadas seguindo o protocolo de purificação por polietilenoglicol 20% descrito em Santos Jr., Santos & Silveira (2015) e o sequenciamento foi realizado pela empresa Myleus Biotecnologia, em ambas as direções (*forward* e *reverse*).

Tabela 2. Primers usados para a amplificação das amostras utilizadas nos estudos filogenéticos com dados moleculares

Nome do primer	Gene	Direção	Sequência (5'-3')	Tamanho do fragmento	Autor
ODO 12852F	16S	<i>Forward</i>	AGAAACCGACCTGGCTTAAA	573 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014
ODO 13393R	16S	<i>Reverse</i>	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	573 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014
ODO 28S f3	28S	<i>Forward</i>	ACCATGAAAGGTGTTGGTTG	1400 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014
ODO 28S r3_p3	28S	<i>Reverse</i>	ATCTCCCTGCGAGAGGATTC	1400 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014
ODO LCO1490d	COI	<i>Forward</i>	TTTCTACWAACCAYAAAGATATTGG	713 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014
ODO HCO2198d	COI	<i>Reverse</i>	TAAACTTCWGGRTGTCCAAARAATCA	713 pb	Dijkstra <i>et al.</i> , 2014

2.2.2 Tratamento dos dados moleculares

Foi utilizado o programa FinchTV 1.4.0 (Geospiza, 2006) para visualizar a qualidade dos cromatogramas e retirar as pontas de cada uma das fitas de DNA que não apresentaram boa qualidade de leitura. Com o auxílio do programa Sequencher 4.1.4 (Gene Codes, 2002), a sequência *forward* (5'-3') foi comparada com a sequência *reverse* (3'-5') a fim de verificar a complementação das duas. Trechos nos quais existiam dúvidas foram corrigidos com base na checagem de ambos os cromatogramas. Uma única sequência foi gerada através do consenso das informações de cada uma das sequências *forward* e *reverse*.

Os alinhamentos foram feitos no programa MAFFT 7 (Katoh *et al.*, 2013). Para os genes ribossomais foi usado o algoritmo E-INS-i (Katoh *et al.*, 2005) e para o alinhamento do COI foi utilizado o algoritmo FFT-NS-2 (Katoh *et al.*, 2002). Para a penalidade de abertura de *gap* e para a penalidade de extensão de *gap* foram usados os valores *default*. Para a retirada de áreas de alinhamento ambíguo foi usado o programa TrimAl 1.2 (Capella-Gutiérrez *et al.*, 2009) utilizando o método automático de corte heurístico através do comando “automated1”.

O algoritmo RogueNaRok (Aberer *et al.*, 2013) foi usado para detectar terminais com posições instáveis (*rogues*) através da comparação de um consenso de maioria e um estrito a partir de uma população de árvores. Para isso foi usado o consenso de regra de

maioria, com valor 2 para o tamanho máximo do *dropset* (Russo & Selvatti, 2018) e foram gerados conjuntos de 1.000 árvores de *bootstrap* não-paramétrico de cada marcador separadamente através do programa IQTree2 (Minh *et al.*, 2020). A retirada de táxons instáveis nas topologias pode melhorar os valores do suporte dos ramos e a resolução das árvores. Foram retirados somente os *rogues* de cada alinhamento que apresentaram valores a partir de 1 para a otimização ‘número de bipartições’ e/ou acima de 0,5 para a otimização ‘suporte’. Adicionalmente, após realizar diferentes análises filogenéticas com diferentes parâmetros (MV e IB), foram verificados os táxons que se apresentavam instáveis nas árvores, estes que também foram retirados.

O programa SequenceMatrix 1.8 (Vaidya *et al.*, 2011) foi usado para concatenar fragmentos de genes distintos em uma única matriz. O particionamento da matriz e a seleção dos modelos de evolução mais adequados ao conjunto de dados do presente estudo foram feitos no programa PartitionFinder2 (Lanfear *et al.*, 2016) segundo o critério de informação corrigido Akaike (AICc), utilizado o algoritmo “greedy” (Lanfear *et al.*, 2012). Os melhores modelos de substituição para cada partição estão disponibilizados no Anexo 3. Na análise com dados morfológicos e moleculares combinados foram utilizados os mesmos modelos de substituição molecular indicados no Anexo 3 e o modelo de particionamento morfológico utilizado foi o MK (Lewis, 2001), que é uma modificação do modelo Jukes-Cantor (Jukes & Cantor, 1969). A partir daqui será usada a sigla “Mor-Mol” para se referir a “dados morfológicos e moleculares combinados”.

2.2.3 Análise filogenética com dados moleculares

A análise de IB foi feita utilizando o MrBayes 3.2.7 (Ronquist *et al.*, 2012) implementado no Cypres (Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research) (Miller *et al.*, 2010), através do algoritmo Markov Chain Monte Carlo com acoplamento de Metropolis (MCMCMC) para aproximação da distribuição de probabilidade posterior das árvores. O *software* MrBayes 3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012) foi usado para sumarizar os valores dos parâmetros amostrados e as árvores. A análise foi feita com cinco partições, usando os modelos indicados pelo PartitionFinder2, com a definição de 30.000.000 gerações, retendo amostras a cada 1.000 gerações, em duas corridas com quatro cadeias, descartando os primeiros 25% do total de amostras (*burnin*= 0,25). Para maiores detalhes ver o arquivo de comandos no Anexo 4.

A convergência foi diagnosticada pelo “Average Standard Deviation of Split Frequencies” (ASDSF) que mede a similaridade das topologias entre as duas corridas, que deve ser menor do que 0,01 (Ronquist *et al.*, 2011); pelo ESS (*Effective Sample Size*), sendo o valor ideal maior do que 200 (Drummond *et al.*, 2006; Ronquist *et al.*, 2011) e pela PSRF (*Potential Scale Reduction Factor*) (Gelman & Rubin, 1992; Ronquist *et al.*, 2011) que deve estar próximo de 1. O suporte de cada ramo da árvore foi gerado usando valores de probabilidade posterior (PP). Clados com PP inferior a 0,5 foram colapsados. O *software* Tracer 1.7.1 (Rambaut *et al.*, 2018) foi usado para visualizar e analisar os arquivos com as amostras dos valores dos parâmetros resultantes da análise de IB.

Para a análise de MV foi utilizado o *software* IQTree2 (Minh *et al.*, 2020). O suporte dos ramos foi obtido com *bootstrap* ultra-rápido (Minh *et al.*, 2013; Hoang *et al.*, 2018) e com *bootstrap* não-paramétrico (Felsenstein, 1985), ambos com 1.000 replicações, utilizando

um número automático de núcleos. Para maiores detalhes ver o arquivo de comandos no Anexo 5. As análises foram repetidas independentemente por dez vezes no intuito de explorar de forma mais eficiente o espaço amostral. As árvores resultantes da análise de IB e MV foram enraizadas em *Mesocnemis singularis* e visualizadas no programa FigTree 1.4.4 (Rambaut, 2018).

Testes topológicos

A monofilia de Pseudostigmatidae foi testada estatisticamente usando a matriz de dados moleculares. Para isso, a monofilia dessa família foi forçada gerando valores de verossimilhança marginal em unidades log (VM) e o resultado foi comparado com os valores de VM gerados sem restrições na topologia usando fatores de Bayes (FB). A VM foi estimada através do método stepping-stone (Xie *et al.*, 2011) com 10.000.000 gerações amostradas a cada 1.000 gerações. Para as corridas que não convergiram, o teste foi feito com 20.000.000 ou 30.000.000 gerações a cada 1.000 gerações. A interpretação dos resultados foi baseada em Kass & Rafferty (1995), utilizando a fórmula $2x \log_e(\text{FB})$. O cálculo foi feito como $2x(H1-H2)$, sendo H1 a hipótese com restrição na topologia e H2 a hipótese sem restrição na topologia, segundo os valores de VM. Os valores de $2x \log_e(\text{FB}) > 10$ foram considerados significativamente favoráveis à H1 (Kass & Rafferty, 1995). Um teste adicional foi realizado para testar estatisticamente a hipótese de *Coryphagrion grandis* como proximamente relacionado à Coenagrionidae. Todos os testes topológicos foram feitos no programa MrBayes.

2.2.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados

A análise de IB foi feita com seis partições, sendo uma morfológica e cinco moleculares, seguindo as mesmas especificações detalhadas no item 0. Para maiores detalhes ver o arquivo de comandos no Anexo 6.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Matriz de dados morfológicos

O conjunto final de dados resultou em uma matriz com 67 táxons e 72 caracteres discretos, sendo 36 exclusivos para machos, oito para fêmeas, 28 comuns a ambos os sexos e 14 codificados como contingentes. Dentre os caracteres, 46 são novos e 26 foram retirados da literatura (O'Grady & May, 2003; Rehn, 2003 e Pessacq, 2008). Destes, 11 foram usados da forma proposta pelos autores originais e 15 modificados. Dos caracteres, seis foram da cabeça, sete do tórax, 26 da asa, 16 do abdômen e 17 do pênis. Do total de codificações (Tabela 3), 4,7% são inaplicáveis, 2,4% são dados faltantes e 0,2% são polimórficos. Os dados faltantes se devem, principalmente, às espécies que não possuem fêmeas descritas ou indisponíveis para estudo e espécies com apenas um indivíduo e com alguma estrutura ausente, danificada ou sem possibilidade de visualização.

O foco do estudo foi verificar a posição filogenética de Pseudostigmatidae. Portanto, não foram dados detalhes na discussão das outras famílias do grupo interno, sobre as quais foram feitos apenas alguns comentários relevantes. A lista de caracteres segue abaixo e as figuras correspondentes estão disponíveis no Anexo 13.

Caracteres da cabeça

1. Manchas pós-oculares no macho (modificado de O'Grady & May, 2003 – caráter 26): (0) presentes (Fig. 1A); (1) ausentes (Figs. 1B, 2, 3).

O'Grady & May (2003) apresentam o caráter como “Ocorrência de mancha pós-ocular e barra mediana no macho”. A ‘barra mediana’ é chamada no presente estudo de ‘mancha na barra occipital’. Os caracteres de presença/ ausência de mancha na barra occipital e de manchas pós-oculares foram separados em dois caracteres, já que são características independentes. A presença/ausência de mancha na barra occipital compõe o caráter 2. A mancha pós-ocular foi considerada presente quando esta possuía uma cor diferente da cor predominante na cabeça. Este caráter não foi aplicado às fêmeas, já que possuem variação intraespecífica, ou seja, nas fêmeas de uma mesma espécie as manchas pós-oculares podem estar presentes ou não.

2. Mancha na barra occipital do macho (modificado de O'Grady & May, 2003 – caráter 26): (0) presente (Fig. 2); (1) ausente (Figs. 1A, 1B, 3).

Ver comentário do caráter 1. A presença de mancha na barra occipital foi considerada presente quando esta possuía uma cor diferente da cor predominante na cabeça. Na figura 1B, a cor predominante da cabeça é marrom e a barra occipital também é marrom, sendo assim, esse exemplar não possui mancha na barra occipital. Este caráter não foi aplicado às fêmeas, já que possuem variação intraespecífica.

3. Localização do occipúcio em relação à margem posterior dos olhos (modificado de O'Grady & May, 2003 – caráter 30): (0) no mesmo ponto (Fig. 3); (1) anterior (Fig. 2); (2) posterior (Figs. 1A, B).

O'Grady & May (2003) apresentam o caráter como “Localização do ponto mais posterior da cabeça”.

4. Formato da margem posterior da cabeça: (0) trapezoidal (Fig. 4A); (1) em U (Fig. 4B); (2) em V (Fig. 4C).

5. Formato da frente em vista anterolateral (modificado de Rehn, 2003 – caráter 4): (0) arredondada (Fig. 5A); (1) reta, com uma margem transversa bem marcada entre frente e antefrente (Fig. 5B).

O estado de caráter 1 aqui descrito foi modificado, pois o termo “angulado”, usado por Rehn, é vago.

6. Desenvolvimento da fenda do premento (modificado de Rehn, 2003 – caráter 3): (0) pouco desenvolvida (Fig. 6A); (1) bem desenvolvida (Fig. 6B).

Rehn (2003) incluiu em um mesmo caráter estados neomórfico e transformacional. Como dentre os táxons examinados no presente estudo não há ausência da fenda do premento, foram considerados apenas os estados transformacionais propostos por Rehn (2003).

Caracteres do tórax

7. Nível da margem posterior da região média do lobo posterior do protórax do macho: (0) ultrapassa o nível das margens laterais (Fig. 12A); (1) no mesmo nível ou sutilmente anterior ao nível das margens laterais (Fig. 12B).

No estado de caráter 1 deste caráter e do caráter abaixo foi descrito ‘no mesmo nível ou sutilmente anterior’, pois alguns táxons possuem essa pequena variação intraespecífica.

8. Nível da margem posterior da região média do lobo posterior do protórax da fêmea: (0) ultrapassa o nível das margens laterais (Fig. 14A); (1) no mesmo nível ou sutilmente anterior ao nível das margens laterais (Fig. 14B); (2) não alcança o nível das margens laterais (Fig. 14C).
9. Lobo lamelar ereto na margem posterior da placa mesostigmal da fêmea, próximo à região mediana: (0) presente (Fig. 9); (1) ausente (Figs. 10, 11).
10. Sulco mediano na placa mesostigmal da fêmea: (0) presente (Fig. 9); (1) ausente (Figs. 10, 11).
11. Carena posterior na placa mesostigmal da fêmea: (0) presente (Fig. 10); (1) ausente.
12. Par de fossas mesepisternais na fêmea: (0) presente (Fig. 13); (1) ausente.
13. Sutura interpleural na lateral do pterotórax (Rehn, 2003 – caráter 86): (0) completa (Fig. 8A); (1) interrompida (Fig. 8B).

Caracteres da asa

14. Número de Ax (modificado de Rehn, 2003 – caráter 23): (0) duas (Fig. 16A); (1) mais de 10 (Fig. 16B).
15. Posição do árculo na asa posterior, em relação à segunda Ax: (0) coincidente (Fig. 16A); (1) distal (Fig. 17A); (2) proximal (Fig. 17B).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 14.

Somente é possível verificar a posição do árculo nos táxons que possuem duas veias antenodais, já que o número de veias nos táxons com mais de dez Ax é variável, o que dificulta inferir a homologia da posição do árculo em relação às veias.

16. Orientação do árculo inferior (Rehn, 2003 – caráter 45): (0) desenvolvido em um ângulo com o árculo superior (Fig. 18); (1) continua no mesmo trajeto do árculo superior (Fig. 16B).
17. Forma da veia RP entre o árculo superior e o subnó (modificado de Rehn, 2003 – caráter 46): (0) fortemente arqueada (Fig. 16B); (1) retilínea (Figs. 16A, 17B); (2) levemente arqueada (Figs. 17A).
18. Veia CuA: (0) presente (Figs. 16A, 17B); (1) ausente (Figs. 17A, 18)

Quando CuA é ausente, MP é reduzida (composta por até cinco células após o subquadrângulo). Portanto, são características dependentes, presentes em Protoneuridae.

De acordo com Kennedy (1919), a redução de CuA em Protoneuridae tem a função de manter o balanço do inseto no ar já que o seu abdômen é delgado. Como o corpo é leve, a quantidade de veias e o tamanho destas na base da asa são reduzidas e o pterostigma, localizado no ápice da asa é suficiente para suportar o peso menor do corpo.

19. Veia CuP&AA: (0) presente (Figs. 19, 20B); (1) ausente (Fig. 18).

20. Desenvolvimento da veia CuP: (0) alcança a margem anal da asa (Fig. 18, 20B); (1) não alcança a margem anal da asa (Fig. 19).

Em *Anomisma* e *Microstigma* a primeira veia anterior ao quadrângulo foi considerada como veia CuP.

21. Veia transversal entre a veia CuP&AA e a margem anal da asa posterior: (0) presente (Fig. 19); (1) ausente (Fig. 20B)

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 19.

22. Origem da veia RP: (0) no árculo superior (Fig. 19); (1) no lado superior do quadrângulo (Fig. 20A); (2) encontra com a aresta superior proximal do quadrângulo (Fig. 20B); (3) encontra com a veia RA (Fig. 16B).

23. Ângulo inferior distal do quadrângulo (célula discoidal) (Rehn, 2003 – caráter 69): (0) reto (Fig. 19); (1) agudo (Fig. 16A).

24. Forma na qual a veia transversal descende da aresta inferior distal do quadrângulo na asa posterior em direção à margem anal da asa: (0) linha reta (Fig. 17A); (1) linha angulada (Fig. 17B).

Em Calopterygidae essa veia possui uma curvatura, sendo, portanto, pertencente ao estado de caráter 1.

25. Posição da veia IR₂ em relação à veia RP₃ em suas origens (modificado de Rehn, 2003 – caráter 84): (0) as duas veias quase se encontram, sendo a distância entre elas na formação da primeira célula até 1/4 da altura da célula acima (Fig. 16A); (1) as veias não são posicionadas muito perto uma da outra, ou seja, a distância entre elas na formação da primeira célula é pelo menos a metade da altura da célula acima (Fig. 20A).

De acordo com Rehn (2003), o estado de caráter 0 é uma sinapomorfia de Pseudostigmatidae do Novo Mundo e da espécie africana *Coryphagrion grandis*.

26. Pseudostigma na asa anterior: (0) presente (Fig. 21A); (1) ausente (Fig. 21B).

Não incluí o caráter de presença/ ausência de pterostigma, pois quando este está presente, o pseudostigma está ausente e vice-versa, exceto para alguns *Microstigma*.

Pseudostigmatidae perdeu o pterostigma em ambos os sexos, mas foi substituído por um pseudostigma, uma mancha que ocupa várias células da asa e que pode ser densamente reticulada como em *Microstigma*. Parece que em alguns *Microstigma* não há o desenvolvimento do pseudostigma na região onde estaria o pterostigma e apenas este está presente. Segundo Rehn (2003), uma perda secundária do pterostigma é algumas vezes encontrada em Calopterygidae, mas a perda tende a ser sexo-específica ou variar entre as populações, e não há desenvolvimento de pseudostigma. De acordo com o Garrison

(Comunicação Pessoal, 2019), *Microstigma* pode apresentar células transparentes na região apical normalmente em indivíduos jovens. Em adultos, essa região é opaca ou colorida. Em *Mecistogaster ornata*, o pseudostigma é a área amarela escura presente próximo ao ápice da asa e a área clara corresponde ao que eu chamo de mancha apical. Em *Anomisma abnorme*, o pseudostigma ocupa quase toda a área apical. O pseudostigma pode ou não alcançar o ápice da asa.

27. Mancha pré-apical na asa anterior do macho: (0) presente (Fig. 21A); (1) ausente.

A mancha pré-apical costuma ser uma faixa escura bem demarcada proximal ao pseudostigma. Em *Microstigma rotundatum*, a mancha pré-apical pode estar ausente ou apresentar-se clara em adultos jovens. No caso de adultos maduros essa mancha é claramente visível.

28. Mancha pré-apical na asa posterior do macho: (0) presente (Fig. 25); (1) ausente.

29. Coloração das veias na região apical da asa anterior do macho em relação às veias do restante da asa: (0) diferente (Figs. 21A); (1) igual (Fig. 21B).

30. Posição em que o ápice das veias RA e RP₁ encontram a margem na asa anterior (Rehn, 2003 – caráter 85): (0) no ápice (Fig. 21B); (1) abaixo do ápice da asa, sendo próximo à margem anal da asa (Fig. 27); (2) acima do ápice da asa, sendo próximo à margem costal da asa (Fig. 28).

De acordo com Rehn (2003), o estado de caráter 1 é uma sinapomorfia de Pseudostigmatidae do Novo Mundo e da espécie africana *Coryphagrion grandis*.

31. Veia intercalar entre as veias RA e RP na asa anterior: (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

Apenas a asa anterior está sendo considerada para os caracteres 31 a 39, pois ela possui as características das veias bem definidas e de fácil visualização.

32. Veia intercalar entre as veias RP₁ e IR₁ na asa anterior (modificado de Rehn, 2003 – caráter 73): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

Rehn (2003) propôs em um mesmo caráter, estados de caráter que poderiam ser outros caracteres. Sendo assim, os caracteres de asa elaborados por Rehn foram modificados. Assim como explicado por Rehn (2003), todos os Odonata possuem uma característica simplesiomórfica que é a presença de duas veias intercalares definidas chamadas IR₁ e IR₂. Por conta disso, essas duas veias são tratadas da mesma forma que as outras veias longitudinais principais (também conhecidas como veias primárias). As veias intercalares propriamente ditas são também chamadas de veias secundárias. Veia intercalar entre RP₁/IR₁ é considerada presente quando está aproximadamente na metade ou mais do que a metade entre a origem de IR₁ e o ápice da asa.

33. Veia intercalar completa entre as veias IR₁ e RP₂ na asa anterior (Rehn, 2003 – caráter 74): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

Veia intercalar completa entre IR₁/RP₂ é considerada presente quando está aproximadamente na metade entre a origem de IR₁ e o ápice da asa e que é em grande parte de sua extensão completa, ou seja, sem interrupção.

34. Veia intercalar entre as veias RP_2 e IR_2 na asa anterior (Rehn, 2003 – caráter 75): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

Veia intercalar entre RP_2 e IR_2 é considerada presente quando está aproximadamente na metade ou mais do que a metade entre a bifurcação RP_1/RP_2 e o ápice da asa.

35. Veia intercalar completa entre as veias IR_2 e RP_3 na asa anterior (modificado de Rehn, 2003 – caráter 76): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

Separei cada um dos estados de caráter das veias contidos em um único caráter em caracteres diferentes que foram transformados em caracteres neomórficos.

A veia intercalar completa entre IR_2 e RP_3 é considerada presente quando está aproximadamente na metade ou mais do que a metade entre a bifurcação RP_1/RP_2 e o ápice da asa e que é em grande parte de sua extensão completa, ou seja, sem interrupção.

36. Ramificação dicotômica da veia RP_3 na asa anterior (modificado de Rehn, 2003 – caráter 76): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

37. Ramificação dicotômica da veia MA na asa anterior (modificado de Rehn, 2003 – caráter 78): (0) presente (Fig. 29); (1) ausente.

38. Angulação na veia MA na asa anterior: (0) presente (Fig. 30A); (1) ausente (Fig. 30B).

Em *Anomisma*, *Megaloprepus* e *Microstigma* a veia MA tem ramificações e estas possuem a margem contínua (não angulada), sendo, portanto, pertencente ao estado de caráter 1.

39. Veia intercalar entre a veia CuA e a margem anal da asa anterior: (0) presente (Fig. 31); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 18.

Quando a ramificação dicotômica em CuA começa próximo à base da asa, não é possível ter veia intercalar, como é o caso de *Anomisma abnorme* e *Microstigma*.

Caracteres do abdômen

40. Tubérculo no ventre do primeiro segmento abdominal do macho: (0) presente (Fig. 32); (1) ausente.

41. Formato da vesícula seminal do macho (modificado de Rehn, 2003 – caráter 109): (0) posteriormente arredondado e visivelmente mais largo do que anteriormente, semelhante ao formato da cabaça (Fig. 33A); (1) anteriormente e posteriormente com larguras aproximadas e uma leve constrição mediana (Fig. 33B); (2) anteriormente e posteriormente com larguras aproximadas, porém posteriormente com duas pontas não conectadas voltadas ventralmente (Fig. 33C).

42. Torus na margem posterodorsal do S10 do macho: (0) presente (Fig. 35); (1) ausente.

43. Lobo (s) na região distal mediana do S10 do macho em vista dorsal: (0) presente (Fig. 37A); (1) ausente (Fig. 37B).

44. Carena na parte interna do cerco do macho, próximo à margem distal do cerco do macho: (0) presente (Fig. 38); (1) ausente.

Foi considerado apenas o ramo superior para este caráter quando o cerco possuía bifurcação.

45. Espinhos na região laterodorsal do cerco do macho: (0) presentes (Fig. 37); (1) ausentes.

46. Curvatura na região distal do cerco no macho: (0) presente (Figs. 37A, 37B, 38); (1) ausente (Fig. 36).

Foi considerado apenas o ramo superior para este caráter quando o cerco possuía bifurcação. Não foi considerada como curvatura a presença de lobos na região distal do cerco.

47. Direção da curvatura na região distal do cerco em vista dorsal ou lateral no macho: (0) ventro-medial (Fig. 37A, B); (1) medial (Fig. 38); (2) ventral (Fig. 40).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 46.

48. Esporão na região apical do cerco do macho: (0) presente (Fig. 37B); (1) ausente.

Os esporões presentes no ápice do cerco de *Argia* e *Ceriagrion* e na curvatura da região dorsal do cerco de *Mecistogaster* (Fig. 37B) foram considerados homólogos primários. De acordo com Kennedy (1919), em Platycneminae *sensu* Tillyard, 1917 há um esporão interno direcionado ventralmente e este é provavelmente homólogo ao esporão presente na região basal do cerco de Coenagrioninae *sensu* Kirby, 1890, e ao curto esporão na curvatura do cerco de Pseudostigmatinae *sensu* Tillyard, 1917. *Diceratobasis macrogaster* possui um esporão no ápice do cerco dirigido ventralmente, sendo aqui considerado homólogo primário aos esporões dos táxons citados anteriormente.

49. Desenvolvimento do epiprocto do macho (Pessacq, 2008 – caráter 37): (0) pouco desenvolvido, ou seja, 25% do comprimento do cerco ou menor (Fig. 37B); (1) bem desenvolvido, ou seja, metade do comprimento do cerco ou maior (Fig. 41).

O epiprocto desenvolvido é modificado em uma placa supra-anal localizada entre os cercos, como no caso de *Epipleoneura*.

50. Desenvolvimento do paraprocto do macho: (0) vestigial (Fig. 39); (1) desenvolvido (Fig. 36).

Foi considerado como vestigial quando a estrutura é em forma de duas meias-luas sem qualquer projeção no ápice, como em *Mecistogaster* e *Platystigma*.

51. Projeção na região baso-mediana dorsal do paraprocto do macho: (0) presente (Fig. 40); (1) ausente (Fig. 41).

Caráter contingente ao estado 1 do caráter 50.

52. Dentes na margem posterodorsal de S9 no macho: (0) presentes (Fig. 39); (1) ausentes.

53. Divisão mediana no S10 da fêmea em vista dorsal (O'Grady & May, 2003 – caráter 13): (0) presente (Fig. 43A); (1) ausente (Fig. 43B).

Em alguns casos, pode haver a marcação de uma fissura, mas esta não é aberta. Sendo assim, considero dividido apenas quando há uma abertura. Essa divisão pode ser pouco ou bem desenvolvida, mas não foi criado um caráter para essa variação, pois haveria dados faltantes e inaplicáveis para muitos táxons.

54. Espinho vulvar da fêmea (O'Grady & May, 2003 – caráter 12): (0) presente (Fig. 44); (1) ausente.
55. Comprimento do ovipositor da fêmea (sem considerar as válvulas do ovipositor) (Pessacq, 2008 – caráter 38): (0) não ultrapassa o último segmento abdominal (Fig. 42); (1) ultrapassa o último segmento abdominal (Fig. 44).

Caracteres do pênis

56. Cerdas nas laterais da região proximal do segmento II do pênis: (0) presente (Fig. 46); (1) ausente.
57. Cerdas nas laterais da região mediana do segmento II do pênis: (0) presente (Fig. 54); (1) ausente.
58. Cerdas nas laterais da região distal do segmento II do pênis: (0) presente (Fig. 58); (1) ausente.
59. Par de espinhos esclerotizados originando-se anteriormente ao encontro dos segmentos II e III do pênis: (0) presente (Fig. 47); (1) ausente.

Chamo aqui de “espinhos esclerotizados” o que foi denominado “espinho” em Soldati & Machado (2019).

De acordo com Kennedy (1919), esse par de espinhos fornece suporte à dobra interna de *Mecistogaster* (detalhes em Soldati & Machado, 2019). Em *Ischnura*, há dois espinhos, chamados de “espinhos internos” por Kennedy (1919) que possuem sua origem anterior ao encontro entre os segmentos II e III. Os espinhos em *Mecistogaster* e *Ischnura* foram considerados homólogos primários, sendo a diferença entre eles a presença ou ausência de pelos. Já *Argia nahuana* tem um par de processos esclerotizados na base do segmento III (no encontro do segmento II e III) e, portanto, não são considerados homólogos aos espinhos tratados neste caráter.

60. Par de processos esclerotizados na base do segmento III do pênis: (0) presente (Fig. 49); (1) ausente.

O par de processos esclerotizados em *Minagrion*, *Argia nahuana*, *A. oculata* e *Bromeliagrion rehni* são considerados homólogos primários.

61. Dobra interna no segmento II do pênis (modificado de O'Grady & May, 2003 – caráter 16): (0) presente (Figs. 47, 55); (1) ausente.

O'Grady & May (2003) incluíram em um mesmo caráter estados neomórfico e transformacional, os quais foram separados em dois caracteres. O caráter transformacional está descrito abaixo (caráter 62).

62. Direção da dobra interna no segmento II do pênis em vista lateral (modificado de O'Grady & May, 2003 – caráter 16): (0) voltada distalmente (Fig. 47); (1) voltada anteriormente (Fig. 55).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 61.

63. Projeção posterolateral no segmento II, anterior ao início do segmento III do pênis (Pessacq, 2008 – caráter 24): (0) presente (Fig. 48); (1) ausente.
64. Formato do segmento III do pênis: (0) em forma de placa (Fig. 50); (1) em forma de flagelo (Fig. 51).

Devido à complexidade do pênis das libélulas, há uma dificuldade em estabelecer a homologia entre as espécies. Segundo De Marmels & Garrison (2005), o pênis de *Bromeliagrion* é altamente apomórfico, sendo o suposto segmento apical (segmento III do pênis) um lobo bifurcado com uma membrana anexada e com um processo basal (par de processos esclerotizados na base do segmento III). Existe a hipótese de que esse suposto segmento apical represente uma dobra terminal altamente modificada, o que indicaria a ausência do segmento III do pênis. Já *Lestes* possui um pênis muito reduzido devido à redução do segmento III, segundo Kennedy (1916) e Garrison *et al.* (2010).

De Marmels (2001), em seu trabalho de revisão de *Megapodagrion*, afirma que *M. megalopus* possui uma dobra interna expandida com um espinho quitinizado no ápice, sendo o segmento III do pênis ausente. Essa hipótese foi também considerada por Garrison *et al.* (2010). Porém, considero que a dobra interna com o espinho quitinizado no ápice seja o segmento III do pênis, já que sua posição é a mesma do segmento III, enquanto a dobra interna se encontra no segmento II, proximal ao segmento III.

Portanto, no presente estudo, estou considerando a hipótese de que *Bromeliagrion rehni*, *Lestes pictus*, *Megapodagrion megalopus* e *Pseudocopera tokyoensis* possuem o segmento III do pênis reduzido. Assim, os caracteres 69-72 foram codificados como inaplicáveis, já que os táxons citados anteriormente apresentam apenas a região basal do segmento III do pênis.

65. Desenvolvimento do segmento III do pênis em forma de placa: (0) reduzido (Fig. 57A, B); (1) desenvolvido (Figs. 50, 59).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64.

66. Espinhos no segmento III em forma de placa do pênis: (0) presentes (Fig. 50); (1) ausentes (Fig. 49).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64.

Phoenicagrion flammeum possui um uma fileira de espinhos que margeiam a projeção mediana do segmento III.

67. Dobra laterodorsal sobre o segmento III do pênis em forma de placa em vista dorsal: (0) presente (Fig. 48); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64.

68. Expansão na lateral da região basal do segmento III do pênis em forma de placa em vista lateral: (0) presente (Fig. 52); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64.

69. Expansão na lateral da região mediana do segmento III do pênis em forma de placa em vista lateral: (0) presente (Fig. 52); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64 e ao estado 1 do caráter 65.

Sua expansão pode ser contínua, alcançando a região basal do pênis, ou descontínua, tendo uma expansão na base e outra separa na região mediana.

70. Expansão na lateral da região apical do segmento III do pênis em forma de placa em vista lateral: (0) presente (Fig. 53); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64 e ao estado 1 do caráter 65.

Mesmo comentário do caráter 69.

71. Constrição na região mediana em relação à base do segmento III do pênis em forma de placa em vista dorsal: (0) presente (Fig. 46); (1) ausente.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64 e ao estado 1 do caráter 65.

72. Afilamento do ápice do segmento III do pênis em forma de placa em vista dorsal: (0) presente (Figs. 58, 59); (1) ausente (Fig. 45).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 64 e ao estado 1 do caráter 65.

Não foi considerado afilado quando há flagelo no ápice do segmento III do pênis. Neste caso, o caráter foi considerado apenas até o início do flagelo.

Tabela 3. Matriz de caracteres usada na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). “-” = caracteres inaplicáveis, “?” = dados faltantes, “0&1” = caracteres polimórficos. Os estados dos caracteres foram indicados com siglas de acordo com a literatura usada para as codificações: B= Battin, 1993; DM= De Marmels, 1984; MG= De Marmels & Garrison, 2005; D= Dijkstra, 2016; G= Garrison, 1986; GA= Garrison *et al.*, 2010; KE= Kennedy, 1919; KI= Kimmins, 1931; L= Lencioni, 2005; M= Machado, 2009; MS= Machado & Soldati, 2017; P= Pessacq, 2014; R= Rehn, 2003; S= Santos, 1957; SA= Santos, 1979; SC= Schmidt, 1951; WM= Westfall & May, 2006.

3.2 Análise filogenética com dados morfológicos

Na análise do TNT com pesagem igual foram encontradas 16 árvores mais parcimoniosas com 304 passos (IC= 27 e IR= 67) e o consenso dessas árvores com os valores de suporte absoluto de Bremer (*suboptimal*= 11) e de Bootstrap está representado na Figura 1. Uma das 16 árvores mais parcimoniosas foi selecionada aleatoriamente para mostrar a evolução dos caracteres (Figura 2).

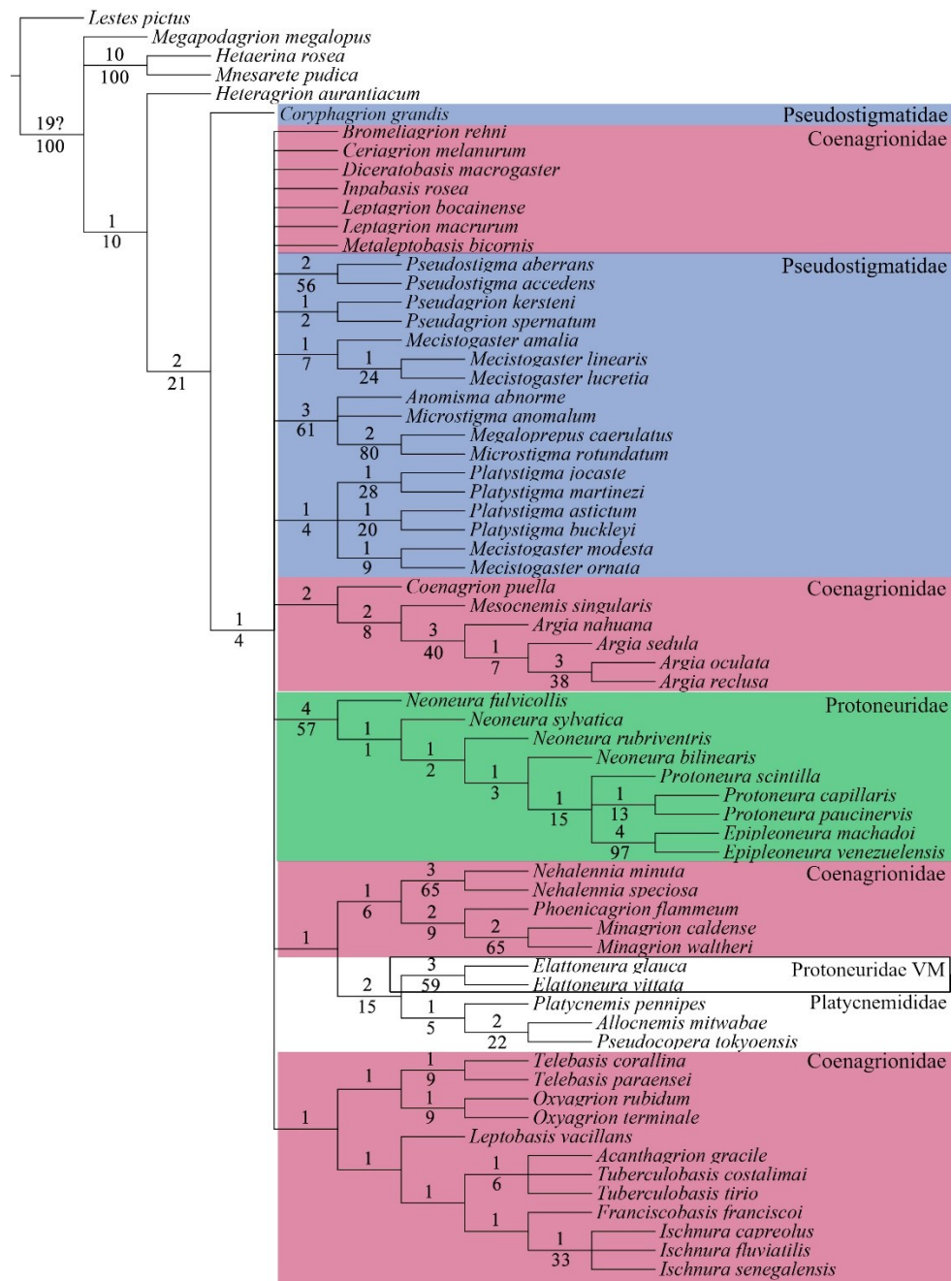


Figura 1. Consenso estrito de 16 árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem igual no *software* TNT (Passos= 304, IC= 27, IR= 67) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= suporte absoluto de Bremer; número abaixo dos ramos= suporte de Bootstrap. Suporte igual a zero não foi indicado na árvore. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores. Protoneuridae VM= representantes de Protoneuridae do Velho Mundo; os outros protoneurídeos são representantes de Protoneuridae do Novo Mundo.

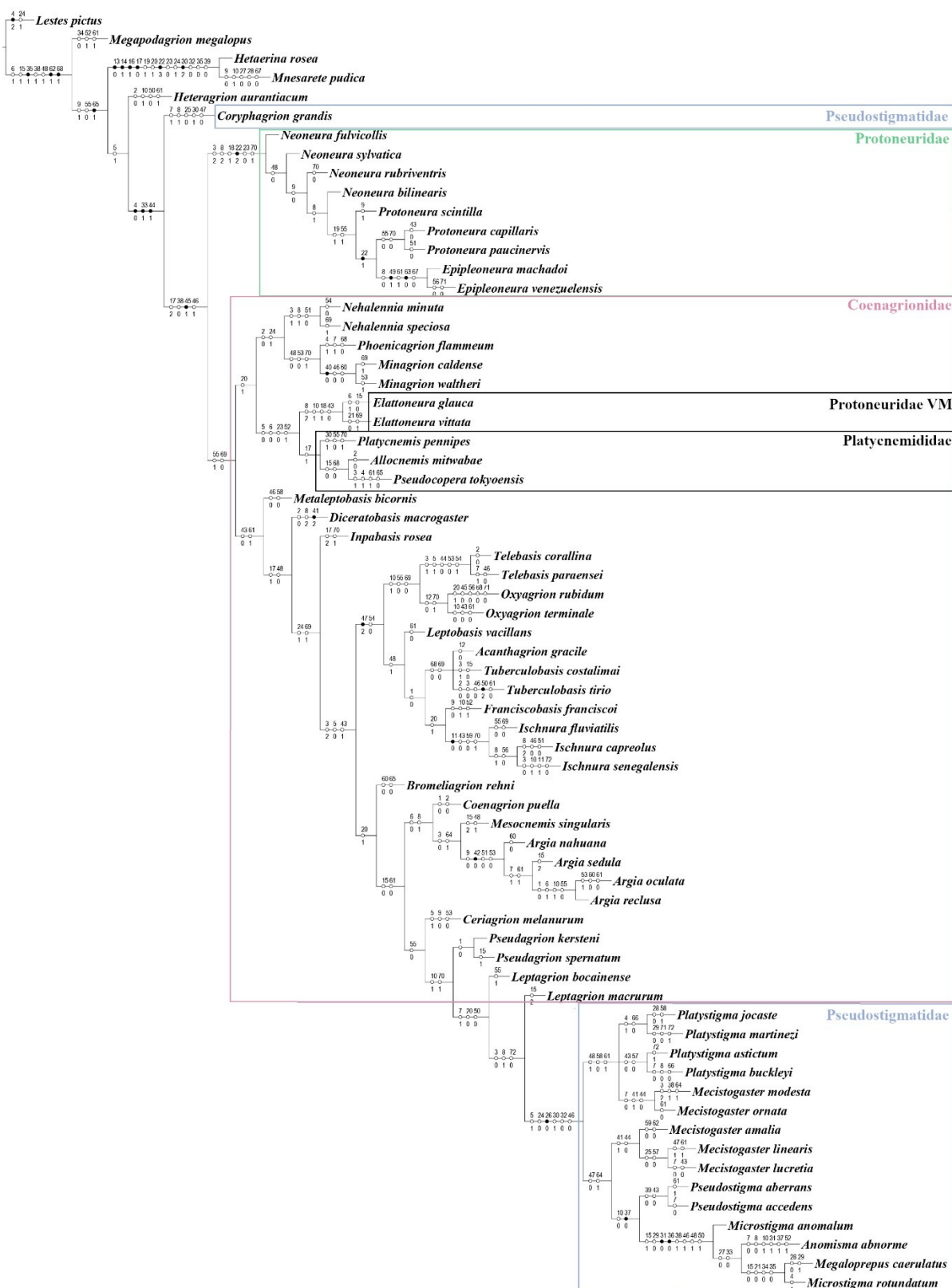


Figura 2. Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das 16 árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem igual na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Círculos brancos= caracteres homoplásicos; círculos pretos= caracteres sinapomórficos; número acima dos ramos= número dos caracteres; número abaixo dos ramos= estados dos caracteres.

O consenso das árvores mais parcimoniosas resultantes dessa análise não recuperou Pseudostigmatidae como grupo monofilético e não apresentou resolução para a relação desta com as outras famílias. Nas 16 árvores mais parcimoniosas encontradas, *Coryphagrion grandis* é grupo-irmão de todas as famílias que representam o grupo interno e de Platycnemididae. Destas 16 árvores, oito estimaram os outros Pseudostigmatidae como monofilética e oito como não-monofilética. O clado formado pelos pseudostigmatídeos, com exceção de *C. grandis*, na árvore escolhida para a otimização dos caracteres é suportado por cinco sinapomorfias homoplásicas (caracteres 5, 24, 30, 32 e 46) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 26), referente à presença do pseudostigma na asa anterior. Ao observar a otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação DELTRAN não houve diferença para este clado de maior interesse.

Na análise do TNT com pesagem implícita foram obtidos quatro conjuntos de seis árvores mais parcimoniosas com maior similaridade em relação às outras de acordo com o resultado do *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Tabela 4 e Tabela 5). Os valores de k referentes a esses quatro conjuntos de árvores foram 3.126, 3.677, 4.344 e 5.169 (Tabela 5). O valor de k escolhido foi aquele que possuía um conjunto de árvores com maior *fit* (k= 3,126) e o consenso das árvores geradas por esse valor de constante de concavidade foi usado como referência. Para esse valor de k= 3,126 foram encontradas seis árvores mais parcimoniosas com 314 passos (IC= 26 e IR= 66) e *fit*= 26,72. A árvore consenso das seis árvores mais parcimoniosas encontradas está apresentada na Figura 3 com os valores de suporte relativo de Bremer (*suboptimal*= 11) e de Bootstrap. Uma das seis árvores mais parcimoniosas foi selecionada aleatoriamente para mostrar a evolução dos caracteres (Figura 4).

Tabela 4. Valores de similaridade (movimentos SPR) produzidos pela comparação das topologias de 11 conjuntos de árvores mais parcimoniosas (fornecidas pelo *script* desenvolvido por Mirande em 2009) usando o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). O resultado da soma dos valores de cada coluna (em negrito) representa o número total de rearranjos de um conjunto de árvores em relação a todos os 11 conjuntos de árvores obtidos. O menor valor da soma corresponde ao conjunto de árvores com a topologia mais similar em comparação com os outros, o que define o melhor valor de k (ver Tabela 5). Os conjuntos de árvores selecionados estão marcados de cinza escuro

Conjunto de árvores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0	3	3	3	3	7	7	2	2	6	14
2	3	0	0	0	0	4	4	5	5	9	13
3	3	0	0	0	0	4	4	5	5	9	13
4	3	0	0	0	0	4	4	5	5	9	13
5	3	0	0	0	0	4	4	5	5	9	13
6	7	4	4	4	4	0	0	8	6	7	12
7	7	4	4	4	4	0	0	8	6	7	12
8	2	5	5	5	5	8	8	0	0	4	12
9	2	5	5	5	5	6	6	0	0	3	12
10	6	9	9	9	9	7	7	4	3	0	14
11	14	11	11	11	11	11	11	13	12	15	0
SOMA=	50	41	41	41	41	55	55	55	49	78	128

Tabela 5. Valor de k para cada um dos 11 conjuntos de árvores gerado pelo *script* desenvolvido por Mirande (2009) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de k escolhidos de acordo com os conjuntos de árvores selecionados na Tabela 4 e os números de árvores mais parcimoniosas encontradas para cada conjunto de árvores, assim como seus valores de *fit* estão marcados na cor cinza escuro

Conjunto de árvores	k	N árvores	fit
1	2.663	6	28.633
2	3.126	6	26.729
3	3.677	6	24.809
4	4.344	6	22.869
5	5.169	6	20.897
6	6.213	3	18.878
7	7.578	3	16.788
8	9.440	3	14.617
9	12.130	6	12.342
10	16.356	3	9.946
11	23.964	1	7.390

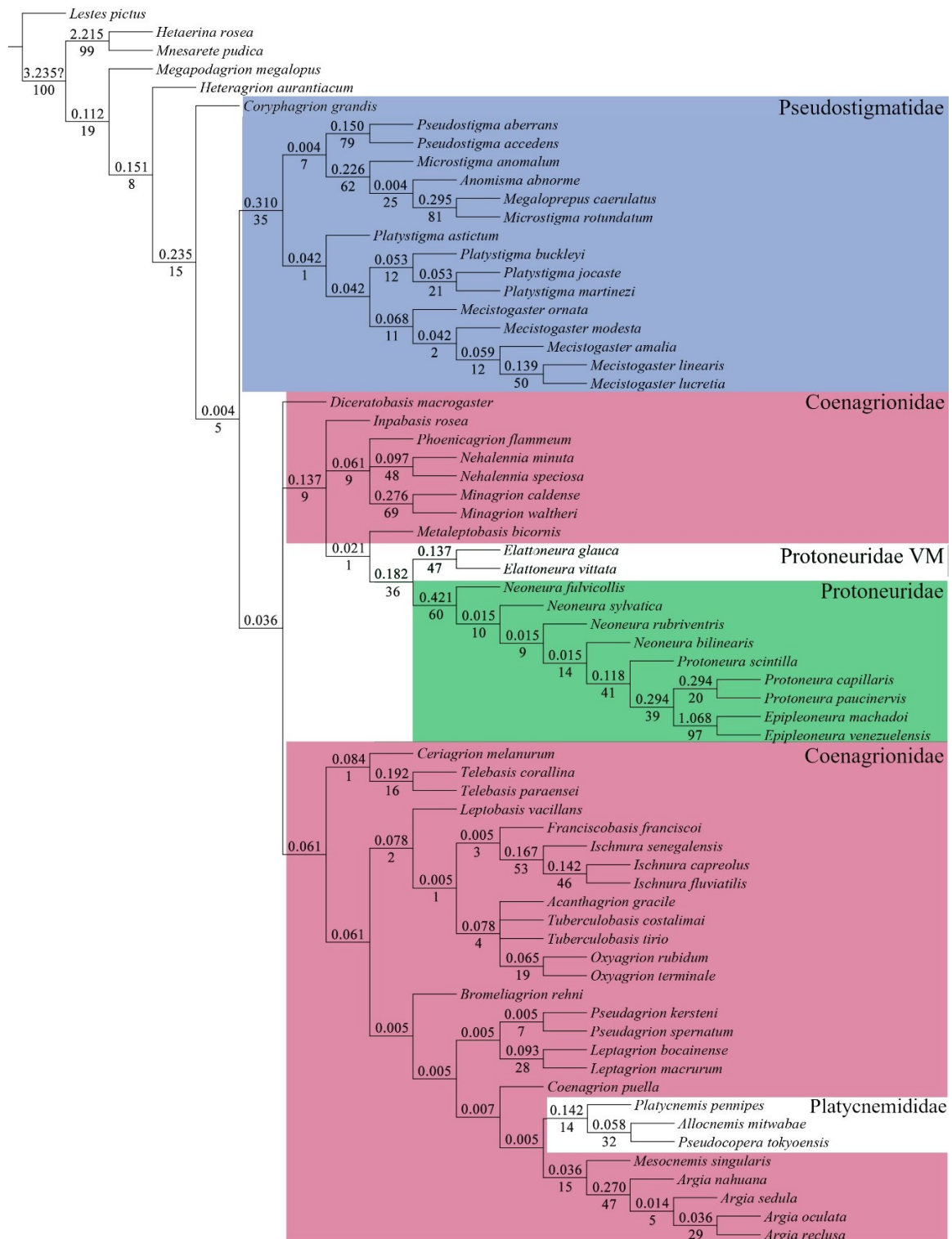


Figura 3. Consenso estrito de seis árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) no *software* TNT (k= 3,126, passos= 314, IC= 26, IR= 66, *fit*= 26,72) para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= suporte relativo de Bremer; número abaixo dos ramos= suporte de Bootstrap. Suporte igual a zero não foi indicado na árvore. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores. Protoneuridae VM= representantes de Protoneuridae do Velho Mundo; os outros protoneurídeos são representantes de Protoneuridae do Novo Mundo.

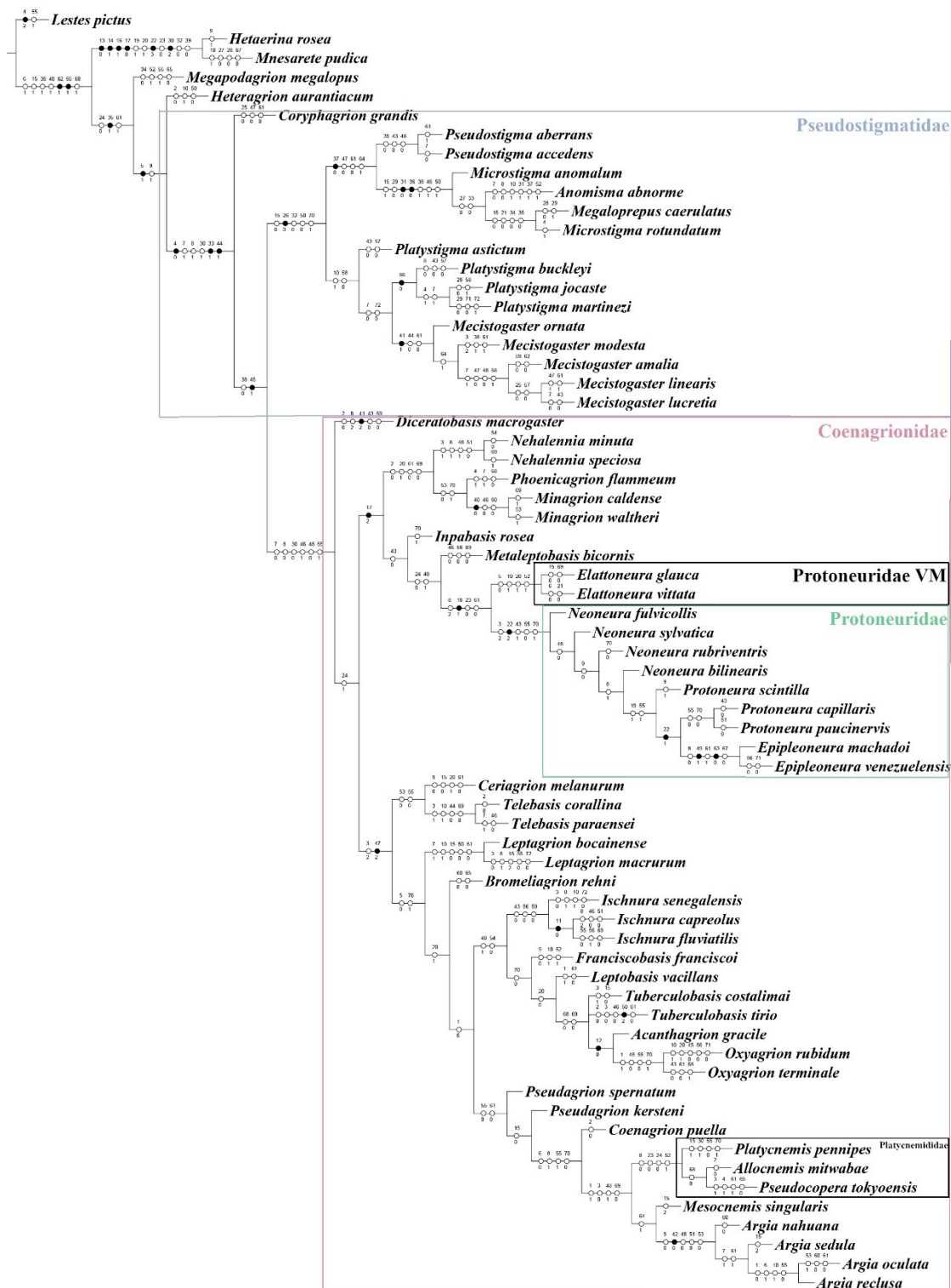


Figura 4. Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das seis árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Círculos brancos= caracteres homoplásicos; círculos pretos= caracteres sinapomórficos; número acima dos ramos= número dos caracteres; número abaixo dos ramos= estados dos caracteres.

Na filogenia apresentada acima, Pseudostigmatidae não é monofilética, já que *Coryphagrion grandis* é grupo-irmão de todas as famílias que representam o grupo interno e de Platycnemididae, assim como no resultado da análise com pesagem igual. Os outros pseudostigmatídeos formam um clado com suporte moderado, que é suportado por quatro sinapomorfias homoplásicas (caracteres 15, 32, 50 e 70) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 26), referente à presença do pseudostigma na asa anterior. Esse resultado é similar ao apresentado na figura 2. Ao observar a otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação DELTRAN, este clado de maior interesse foi suportado por três sinapomorfias homoplásicas (caracteres 8, 30 e 32) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 26).

Na análise com pesagem implícita usando o *script* “setk” foram encontradas três árvores mais parcimoniosas com 308 passos (IC= 26 e IR= 67) e *fit*= 13,87, recuperadas com o valor de $k= 10,239$, indicado pelo *script* como sendo o k “ótimo”. A árvore consenso das três árvores mais parcimoniosas encontradas está apresentada na Figura 5 com os valores de suporte de Bremer (*suboptimal*= 11) e de Bootstrap. Uma das três árvores mais parcimoniosas foi selecionada aleatoriamente para mostrar a evolução dos caracteres (Figura 6).

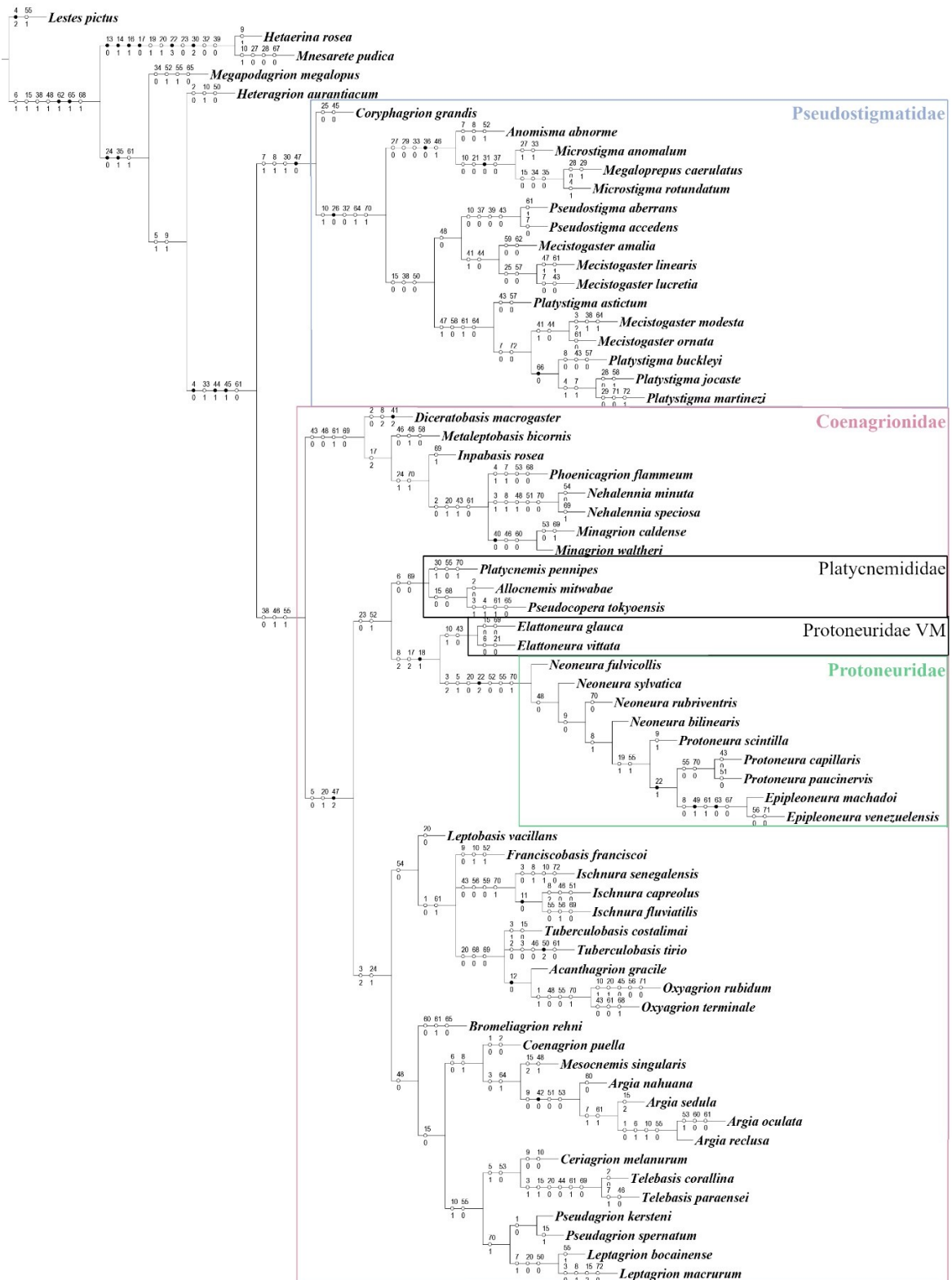


Figura 6. Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das três árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem implícita usando o *script* "setk" na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Círculos brancos= caracteres homoplásicos; círculos pretos= caracteres sinapomórficos; número acima dos ramos= número dos caracteres; número abaixo dos ramos= estados dos caracteres.

Na filogenia resultante dessa análise, *Coryphagrion grandis* é táxon-irmão dos outros Pseudostigmatidae, com baixo suporte. A família é suportada por três sinapomorfias homoplásicas (caracteres 7, 8 e 30) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 47), referente à direção da curvatura na região distal do cerco ser ventro-medial, porém é medial em *Mecistogaster linearis* e no clado que compreende *Platystigma*, *M. modesta* e *M. ornata*, sendo que alguns táxons em Pseudostigmatidae não apresentam curvatura nessa região do cerco. Apesar deste resultado ser consistente com o relacionamento filogenético entre *C. grandis* e os outros Pseudostigmatidae apresentado por Groeneveld *et al.* (2007), estes autores não utilizaram representantes de famílias proximamente relacionadas como Coenagrionidae.

Dentre os pseudostigmatídeos, *Coryphagrion grandis* é o único que possui espinhos na região laterodorsal do cerco do macho, característica compartilhada com *Lestes pictus* (Lestidae), *Oxyagrion rubidum* (Coenagrionidae), megapodagrionídeos e calopterigídeos. Além disso, *C. grandis* não apresenta algumas características diagnósticas de Pseudostigmatidae e que são compartilhada com coenagrionídeos, tais como: ausência de veia intercalar entre RP1 e IR1 e ausência de pseudostigma. Embora *C. grandis* não apresente pseudostigma nas asas anterior e posterior, o seu pterostigma é espesso, ao contrário do pterostigma de Coenagrionidae (Toussaint *et al.*, 2019). A espessura do pterostigma indica maior acúmulo de hemolinfa, importante para manter a estabilidade durante o vôo de libélulas que possuem asas longas e para suportar os seus hábitos alimentares e de oviposição (Corbet, 1983; Fincke, 1984). A característica mais evidente em *C. grandis* compartilhada apenas com Pseudostigmatidae é o abdômen e asas compridas, essenciais para a oviposição em fitotelmata e para coletar aranhas nas teias e as presas das aranhas, que de acordo com Toussaint *et al.* (2019) representa uma convergência ecomorfológica, também verificada em outros insetos.

Ao observar a otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação DELTRAN, este clado de maior interesse foi suportado apenas por três sinapomorfias homoplásicas (caracteres 7, 8 e 30). Um dos caracteres que em Rehn (2003) é único para Pseudostigmatidae, no presente estudo se torna uma sinapomorfia homoplásica, já que esse caráter aparece em *Platycnemis pennipes* (caráter 30, IR= 94), táxon não usado por Rehn (2003). Ainda sobre as análises com dados morfológicos com pesagem implícita, ambos os resultados indicam a não-monofilia de Coenagrionidae, pois inclui Protoneuridae e Platycnemididae.

Dijkstra *et al.* (2014) e Carle *et al.* (2008), em seus estudos, sugeriram *Bromeliagrion*, *Diceratobasis* e *Leptobasis* como gêneros proximamente relacionados a Pseudostigmatidae ou a inclusão desses gêneros dentro dessa família. Porém, no presente estudo, as filogenias com dados morfológicos indicam que esses gêneros não estão proximamente relacionados a Pseudostigmatidae e permanecem como parte de Coenagrionidae.

3.3 Análise filogenética com dados moleculares

O comprimento final dos fragmentos foi de 376 pares de bases (pb) para 16S, 1335 pb para 28S e 535 pb para COI. Do total de 56 espécies do grupo interno e onze dos grupos externos selecionadas *a priori* para o estudo, foram utilizadas, respectivamente, 35 e quatro espécies, as quais possuíam sequências disponíveis ou tiveram o seu DNA

sequenciado, sendo o enraizamento em *Mesocnemis singularis*. O Anexo 7 apresenta a lista de espécies utilizadas na análise filogenética com dados moleculares, indicando aquelas que possuem suas sequências disponíveis no Genbank e aquelas que tiveram seu DNA sequenciado para cada um dos três genes usados.

Os *rogues* retirados de cada um dos genes foram *Bromeliagrion rehni*, *Ceriagrion melanurum*, *Inpabasis rosea*, *Ischnura capreolus*, *Neoneura sylvatica* e *Protoneura capillaris* para 16S; *Argia nahuana*, *B. rehni* e *I. rosea* para 28S; *Anomisma abnorme*, *Elatoneura vittata*, *Epipleoneura venezuelensis*, *Heteragrion aurantiacum*, *I. rosea*, *Leptobasis vacillans*, *Mesocnemis singularis*, *Minagrion caldense* e *N. sylvatica* para COI. Os três genes concatenados resultaram em uma matriz de 39 terminais e 2246 caracteres. A árvore obtida pela análise de IB está representada na Figura 7. O resultado da análise de MV está representado na Figura 8.

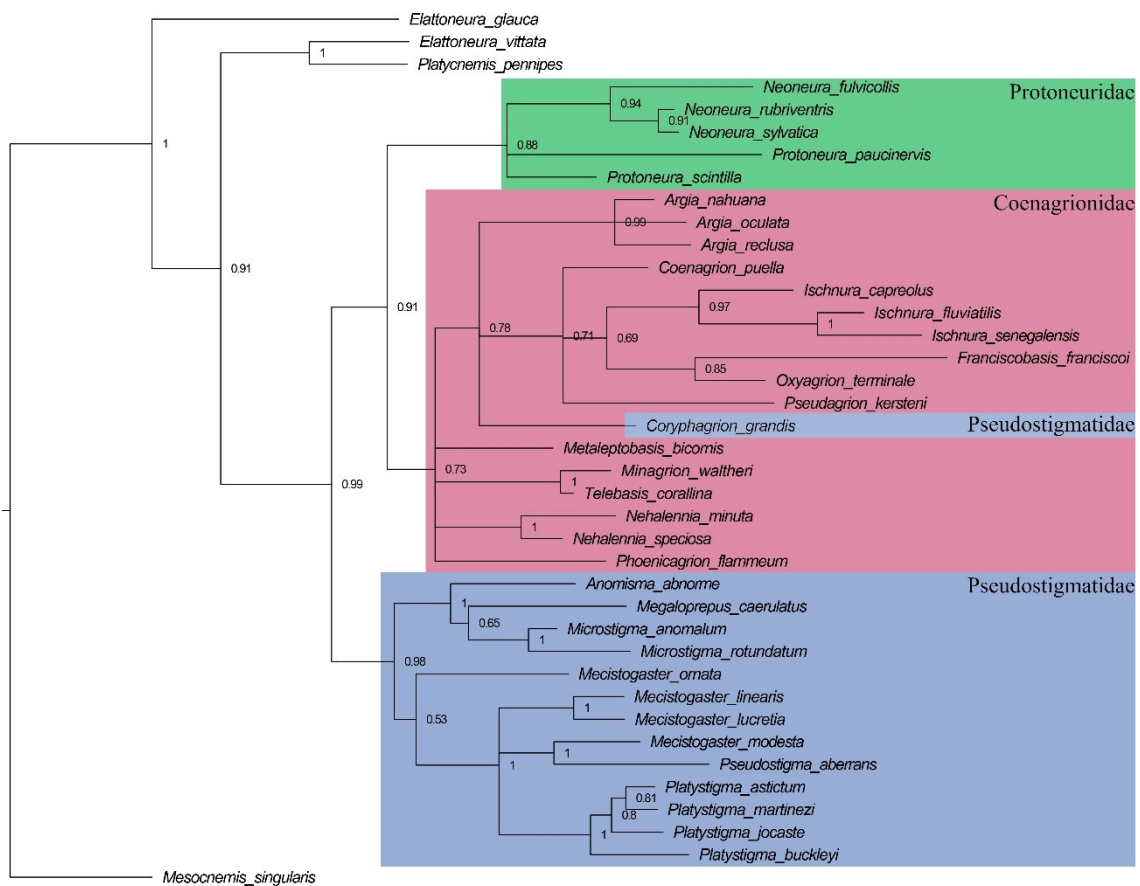


Figura 7. Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Inferência Bayesiana utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* MrBayes para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de Probabilidade Posterior (PP) estão representados próximos aos nós. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores.

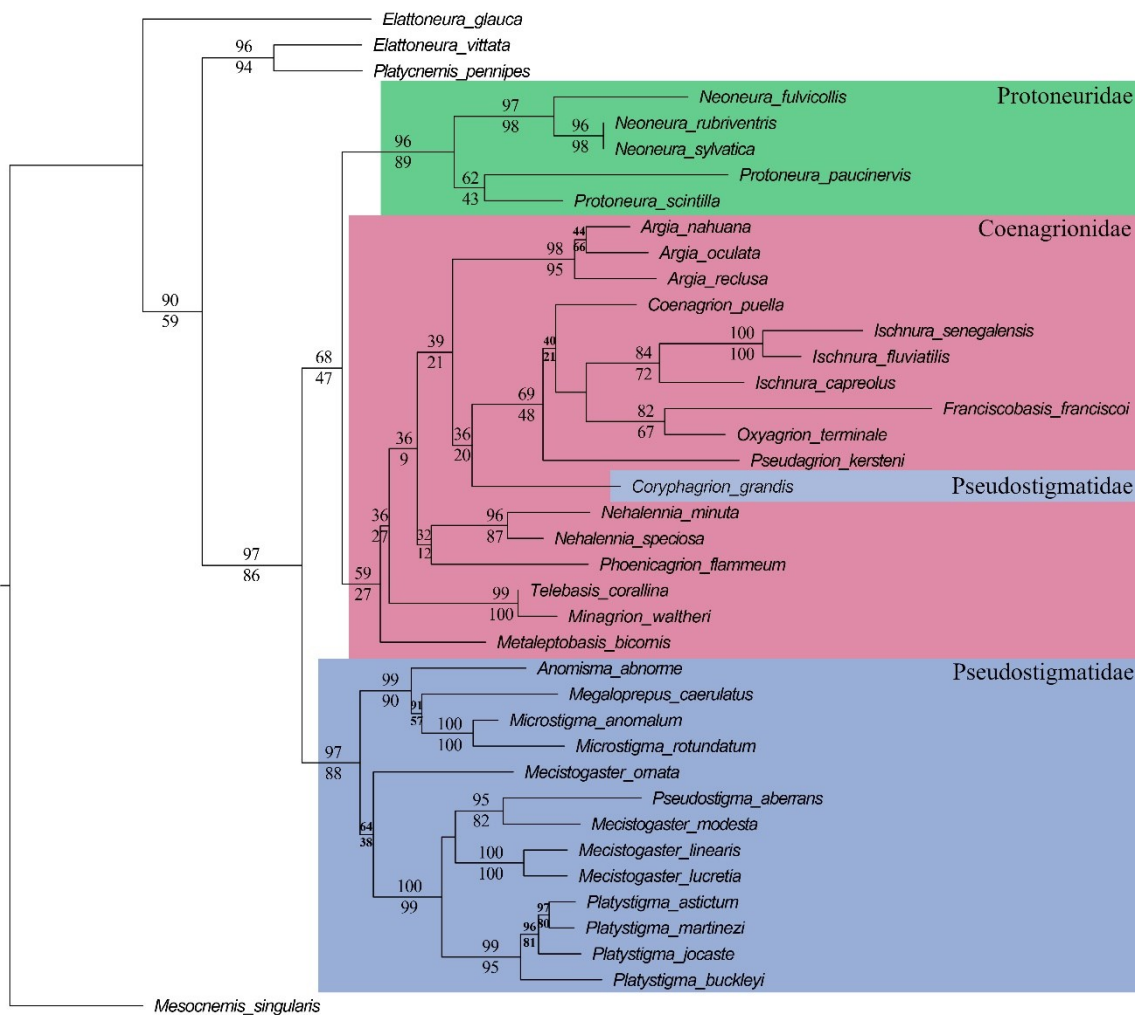


Figura 8. Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Máxima Verossimilhança utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* IQTree para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método ultra-rápido; número abaixo dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método não-paramétrico. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores.

Das dez repetições da análise de MV realizadas com os dados moleculares, seis obtiveram a mesma topologia. As outras quatro apresentaram pequenas diferenças, três em relação à posição de *Metaleptobasis bicornis* e uma em relação à posição de *Pseudagrion kersteni*.

Na filogenia com dados moleculares, tanto resultante da análise de IB, quanto de MV, Pseudostigmatidae não é monofilética. Pseudostigmatidae, com exceção de *Coryphagrion grandis*, forma um clado com alto suporte, grupo-irmão de Coenagrionidae + Protoneuridae do Novo Mundo. *Coryphagrion grandis* está aninhado em Coenagrionidae. Nas filogenias com dados moleculares apresentadas por Toussaint *et al.* (2019), Carle *et al.* (2008) e Dijkstra *et al.* (2014), Coenagrionidae é parafilética não só em relação à Pseudostigmatidae, mas também à Protoneuridae do Novo Mundo. De acordo com o resultado do teste topológico foi recuperada uma VM = -11200,16 para a topologia sem restrição. O resultado do teste forneceu evidências significativamente favoráveis para a monofilia de Pseudostigmatidae sem *Coryphagrion grandis* (VM= -

11177,07; $2x\log_e(\text{FB}) = 46,18$) e para a monofilia de *Coryphagrion grandis* com Coenagrionidae (VM = -11180,99; $2x\log_e(\text{FB}) = 38,34$), testadas pelo FB.

3.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados

O tratamento dos táxons *rogues* foi o mesmo descrito no item 0. Portanto, a análise dos Mor-Mol resultou em uma matriz de 39 terminais e 2318 caracteres. O enraizamento foi feito em *Mesocnemis singularis*. A árvore obtida pela análise de IB está representada na Figura 9. O resultado da análise de MV está representado na Figura 10.

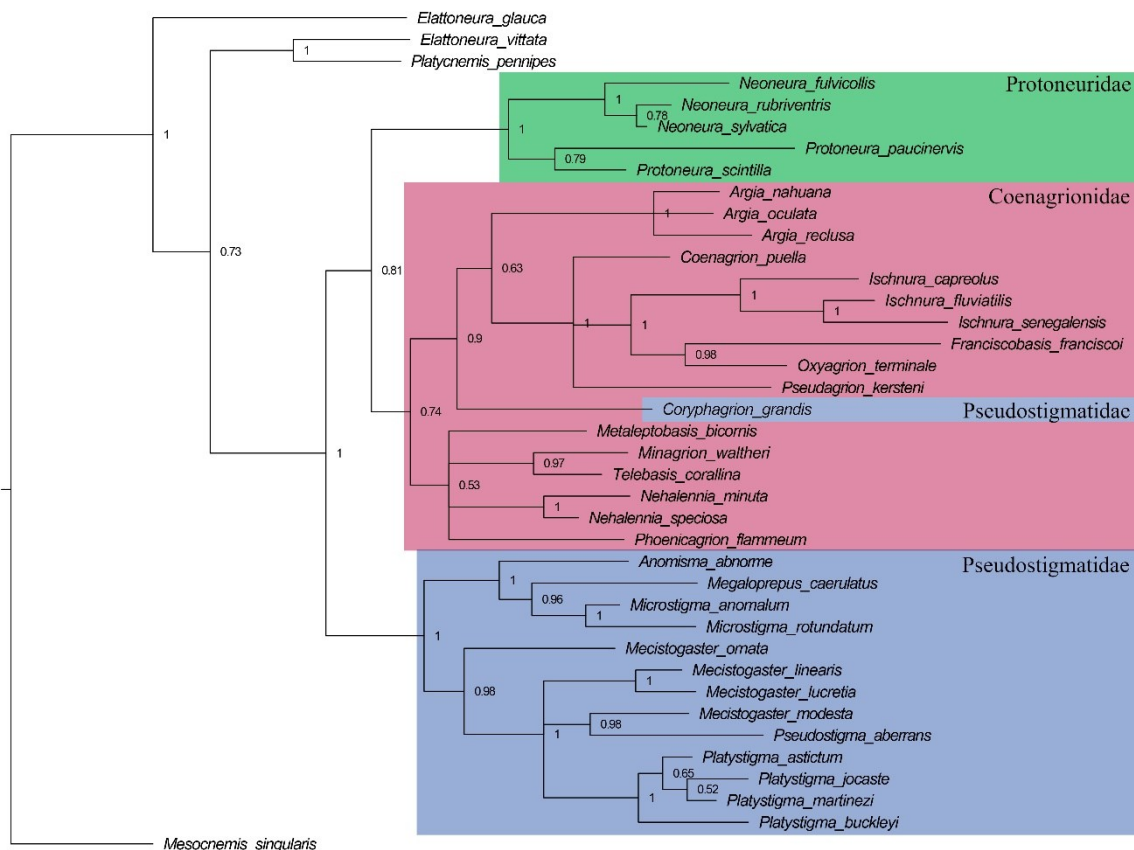


Figura 9. Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Inferência Bayesiana realizada no *software* MrBayes para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de Probabilidade Posterior (PP) estão representados próximos aos nós. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores.

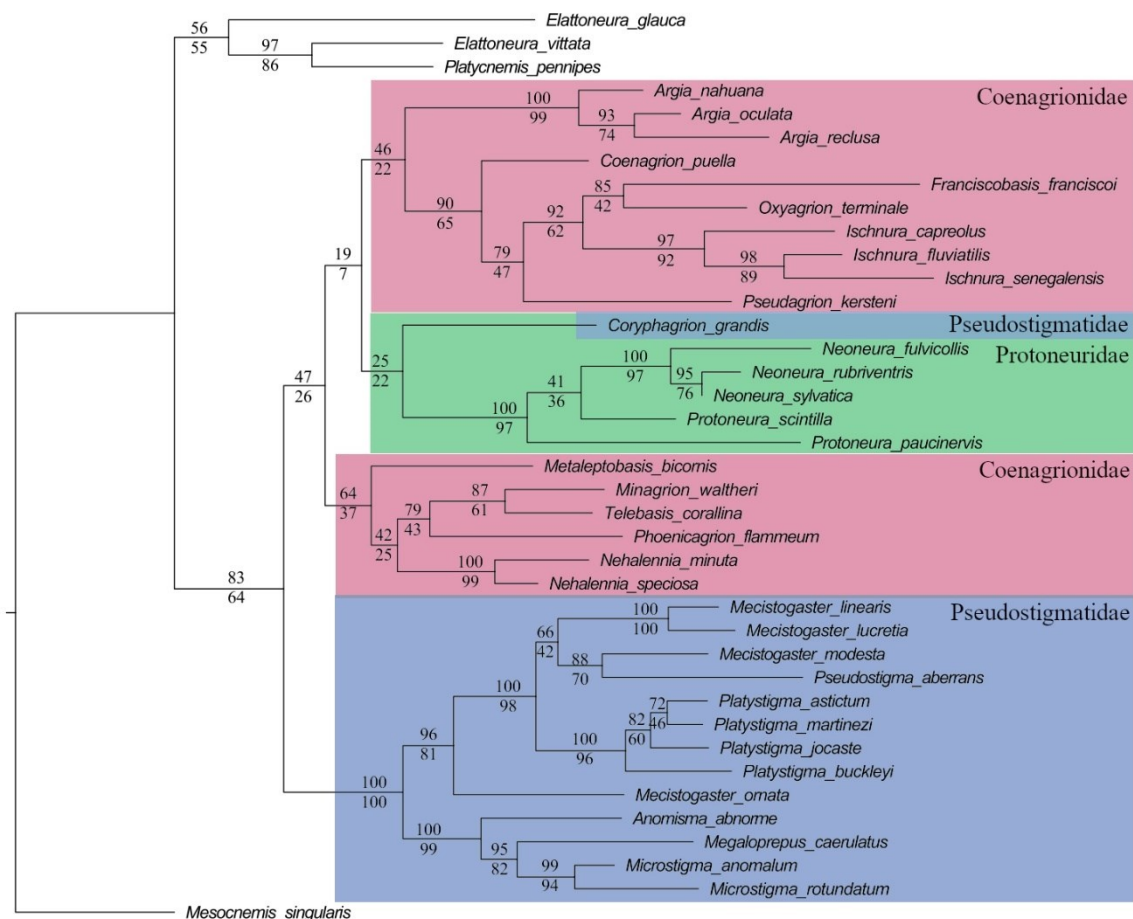


Figura 10. Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Máxima Verossimilhança realizada no *software* IQTree para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método ultra-rápido; número abaixo dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método não-paramétrico. Apenas as famílias pertencentes ao grupo interno estão destacadas com cores.

As dez repetições realizadas com os Mor-Mol obtiveram a mesma topologia. Ambas as análises mostram que Pseudostigmatidae se torna monofilética ao desconsiderar *Coryphagrion grandis* como parte dessa família.

No resultado da análise de IB os pseudostigmatídeos neotrópicos formam um clado com suporte de 100%, grupo-irmão de Coenagrionidae + Protoneuridae do Novo Mundo. *Coryphagrion grandis* está inserido em Coenagrionidae, clado-irmão de Protoneuridae do Novo Mundo. Bybee *et al.* (2008) encontraram um resultado parecido na filogenia com Mor-Mol, na qual Protoneuridae do Novo Mundo é monofilética, grupo-irmão de Pseudostigmatidae + Coenagrionidae. No resultado da análise com Mor-Mol de Toussaint *et al.* (2019), *C. grandis* é táxon-irmão dos outros Pseudostigmatidae, clado pertencente à Coenagrionidae.

Já no resultado da análise de MV, Pseudostigmatidae (exceto *C. grandis*) forma um clado com suporte de 100%. *Coryphagrion grandis* é táxon-irmão de Protoneuridae do Novo Mundo, estes que estão inseridos em Coenagrionidae.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar das sinapomorfias homoplásicas apresentadas nos resultados das análises com dados morfológicos, foram identificados caracteres fáceis de interpretar e que possuem informação filogenética. Além disso, a maior amostragem utilizada foi importante para a estabilidade do posicionamento dos grupos durante as análises.

A proposta aqui apresentada é inconsistente com propostas anteriores que incluíram Pseudostigmatidae como uma subfamília de Coenagrionidae. As filogenias apresentadas no presente estudo se complementaram e convergiram para a hipótese de Pseudostigmatidae como uma família válida. Mesmo com a retirada de *C. grandis* de Pseudostigmatidae, a diagnose desta família se mantém. Sendo assim, *C. grandis* como um coenagrionídeo corrobora à estudos anteriores.

Portanto, Pseudostigmatidae é caracterizada pelo tamanho do abdômen que varia entre 60 e 155 mm; nó a $\frac{1}{4}$ ou $\frac{1}{5}$ do comprimento da asa; pelo menos uma fileira de células entre CuA e a margem anal da asa; presença de um falso pterostigma (pseudostigma); veia intercalar entre RP1 e IR1; e cercos muito maiores que os paraproctos (rudimentares). *Coryphagrion grandis* compartilha com Coenagrionidae características como presença de pterostigma, ausência de veia intercalar entre RP1 e IR1, e paraprocto desenvolvido.

Estudo 2 Relações filogenéticas entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) com base em dados morfológicos, moleculares e dados morfológicos e moleculares combinados

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Filogenia com dados morfológicos

5.1.1 Obtenção de dados morfológicos

O material examinado está depositado nas seguintes instituições, com seus respectivos curadores:

CCT-UFMG – Coleção A.B.M. Machado do Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil – Dr. Fernando A. Silveira;

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil – Dr. Márcio Luíz de Oliveira;

NHM – Natural History Museum, Londres, Reino Unido – Dr. Benjamin Price.

Novos exemplares foram obtidos por coletas realizadas em campo por mim e por outros pesquisadores nos estados brasileiros do Acre, Alagoas, Amapá, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais e Pará. Todos esses espécimes foram depositados no CCT-UFMG.

Para o estudo das relações filogenéticas entre gêneros e espécies de Pseudostigmatidae foram selecionados 36 táxons terminais, sendo 13 dos grupos externos e 23 do grupo interno. O grupo interno foi composto por todos os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae, com exceção de *Platystigma pronoti* (Sjöstedt, 1918), que foi descrita baseada em uma única fêmea e esta se encontra em mau estado de conservação. Os grupos externos foram compostos por representantes de: 1) Coenagrionidae (os chamados “ridge-faced Coenagrionidae”, que são gêneros associados à Protoneurinae *sensu* Jakobson & Bianchi, 1905 devido à presença de fronte angulada) (Dijkstra *et al.*, 2014) e são coenagrionídeos proximamente relacionados ao grupo interno, e 2) Protoneuridae do “Novo Mundo” (Protoneurinae *sensu* Jakobson & Bianchi, 1905), filogeneticamente mais distante do grupo interno segundo Dijkstra *et al.* (2014) e Toussaint *et al.* (2019).

Pelo menos dois gêneros de cada família foram amostrados. O enraizamento da árvore foi feito em *Ischnura fluviatilis* (Coenagrionidae), representante do chamado “core Coenagrionidae”. *Ischnura* é um gênero associado à Agriocnemidinae *sensu* Fraser, 1957 (Dijkstra *et al.*, 2014), sendo representante de um dos clados mais distantes do grupo interno. Sempre que possível, a amostragem conteve o gênero-tipo da família e a espécie-tipo de cada gênero tanto para o grupo interno, quanto para os grupos externos, assim como o macho e a fêmea das espécies selecionadas. O material examinado para esse estudo está listado no Anexo 8.

5.1.2 Estudo da morfologia e terminologia morfológica

Os procedimentos foram os mesmos descritos no item 0.

5.1.3 Construção dos caracteres

A construção dos caracteres seguiu os mesmos procedimentos descritos no item 0.

A codificação dos caracteres das libélulas que estavam com alguma estrutura ausente, danificada, sem possibilidade de visualização ou com um dos sexos da espécie indisponível para estudo, foi baseada na literatura quando disponível (De Marmels, 1984; De Marmels & Garrison, 2005; Garrison, 1986; Garrison *et al.*, 2010; Kimmins, 1931; Lencioni, 2005; Lencioni, 2017; Machado & Soldati, 2017; Morton, 1924; Pessacq, 2014; Rehn, 2003; Santos, 1979 e von Ellenrieder & Garrison, 2017).

5.1.4 Análise filogenética com dados morfológicos

Os procedimentos foram os mesmos descritos no item 0.

5.2 Filogenia com dados moleculares

5.2.1 Obtenção de dados moleculares

Para a análise com dados moleculares foi usado material fresco obtido de coletas nos estados brasileiros do Acre, Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais e Pará e material doado pelo Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução da Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil (UFSCar), assim como sequências depositadas no banco de dado online GenBank. Foram usados dois genes mitocondriais, 16S rRNA e Citocromo Oxidase subunidade 1 (COI) e um gene nuclear, 28S rRNA. Esses marcadores foram utilizados anteriormente para as libélulas por Groeneveld *et al.* (2007) e Ingley *et al.* (2012) para verificar a relação entre os Pseudostigmatidae.

A extração de DNA foi feita da musculatura retirada de uma ou duas pernas de 10 espécimes de Odonata (Tabela 6) seguindo o protocolo de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) disponível em <http://labs.icb.ufmg.br/lbem/protocolos/extracao.html>.

5.2.2 Tratamento dos dados moleculares

Os procedimentos foram os mesmos descritos no item 0.

Os melhores modelos de substituição para cada partição estão disponibilizados no Anexo 3. Na análise com Mor-Mol foram utilizados os mesmos modelos de substituição molecular indicados no Anexo 3. Os modelos de particionamento morfológico utilizados são os mesmos descritos no item 0.

Tabela 6. Espécimes que tiveram o DNA extraído para o estudo filogenético com dados moleculares das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera) e o número de registro da coleção onde o material está depositado. CCT-UFMG= Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; LESTES= Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução, UFSCar, São Carlos

Táxon	Número de registro
<i>Mecistogaster nordestina</i>	IOD2000002 (CCT-UFMG)
<i>Mecistogaster</i> sp.	IOD2000003 (CCT-UFMG)
<i>Mecistogaster nordestina</i>	IOD2000005 (CCT-UFMG)
<i>Mecistogaster</i> sp.n.	IOD2000006 (CCT-UFMG)
<i>Mecistogaster ornata</i>	IOD1800095 (CCT-UFMG)
<i>Metaleptobasis bicornis</i>	DS04 (LESTES)
<i>Microstigma maculatum</i>	IOD1800101 (CCT-UFMG)
<i>Nehalennia minuta</i>	IOD2000007 (CCT-UFMG)
<i>Neoneura sylvatica</i>	IOD1800128 (CCT-UFMG)
<i>Platystigma buckleyi</i>	IOD1800099 (CCT-UFMG)

5.2.3 Análise filogenética com dados moleculares

Os procedimentos foram os mesmos descritos no item 0. Para maiores detalhes ver o arquivo de comandos no Anexo 9.

5.2.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados

A análise de IB foi feita com seis partições, sendo uma morfológica e cinco moleculares, seguindo as mesmas especificações detalhadas no item 0. Para maiores detalhes ver o arquivo de comandos no Anexo 10.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Matriz de dados morfológicos

O conjunto final de dados resultou em uma matriz com 36 táxons e 67 caracteres discretos, sendo 36 exclusivos para machos, seis para fêmeas, 25 comuns a ambos os sexos e 13 codificados como contingentes. Dentre os caracteres, 50 são novos e 17 foram retirados da literatura (O'Grady & May, 2003; Rehn, 2003; Pessacq, 2008). Destes, cinco foram usados da forma proposta pelos autores originais e 12 modificados. Dos caracteres, quatro foram da cabeça, seis do tórax, um da perna, 28 da asa, 12 do abdômen e 16 do pênis. Do total de codificações (Tabela 7), 9,78% são inaplicáveis, 3,85% são dados faltantes e 0,37% são polimórficos. Os dados faltantes ocorreram pelos mesmos motivos citados no item 3.1. A lista de caracteres segue abaixo e as figuras correspondentes estão disponíveis no Anexo 13.

Caracteres da cabeça

1. Caráter 2 da lista de caracteres do item 3.1.
2. Caráter 3 da lista de caracteres do item 3.1.
3. Caráter 4 da lista de caracteres do item 3.1.
4. Caráter 5 da lista de caracteres do item 3.1.

Caracteres do tórax

5. Mancha marrom avermelhada não metálica no mesepímero: (0) presente (Fig. 7); (1) ausente.
6. Caráter 7 da lista de caracteres do item 3.1.
7. Caráter 8 da lista de caracteres do item 3.1.
8. Caráter 9 da lista de caracteres do item 3.1.
9. Caráter 10 da lista de caracteres do item 3.1.
10. Carena mediana na placa mesostigmal da fêmea: (0) presente (Fig. 11); (1) ausente (Fig. 9).

Caracteres das pernas

11. Desenvolvimento do dente suplementar da garra tarsal: (0) bem desenvolvido (Fig. 15A); (1) pouco desenvolvido (Fig. 15B).

Bem desenvolvido é um dente que forma um ângulo agudo com a garra tarsal. Pouco desenvolvido é um dente diminuto em forma de triângulo ou quase imperceptível.

Caracteres da asa

12. Caráter 15 da lista de caracteres do item 3.1.
13. Forma da veia RP entre o árculo superior e o subnó (modificado de Rehn, 2003 – caráter 46): (0) retilínea (Figs. 17B); (1) levemente arqueada (Figs. 17A).
14. Caráter 18 da lista de caracteres do item 3.1.
15. Caráter 19 da lista de caracteres do item 3.1.
16. Caráter 20 da lista de caracteres do item 3.1.
17. Origem da veia RP: (0) no árculo superior (Fig. 19); (1) no lado superior do quadrângulo (Fig. 20A); (2) encontra com a aresta superior proximal do quadrângulo (Fig. 20B).
18. Caráter 23 da lista de caracteres do item 3.1.
19. Caráter 24 da lista de caracteres do item 3.1.
20. Caráter 25 da lista de caracteres do item 3.1.
21. Caráter 26 da lista de caracteres do item 3.1.
22. Pseudostigma na asa posterior: (0) presente (Fig. 22A, 23A, 23B); (1) ausente (22B).
23. Dilatação costal anterior ao ápice da asa, acima do estigma (pseudostigma) na asa posterior do macho: (0) presente (Fig. 22A, 23A, 23B); (1) ausente (Fig. 24A).
24. Angulação da dilatação costal anterior ao ápice da asa, acima do estigma na asa posterior do macho: (0) acentuada (Fig. 22A); (1) moderada (Fig. 23A); (2) sutil (Fig. 23B).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 23.

25. Número de fileira de células ocupadas completamente pelo pseudostigma na asa anterior do macho: (0) uma (Fig. 26); (1) duas (Fig. 24A); (2) três (Fig. 24B); (3) seis (Fig. 21A).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 21.

26. Caráter 27 da lista de caracteres do item 3.1.
27. Caráter 28 da lista de caracteres do item 3.1.
28. Mancha apical da asa anterior do macho: (0) presente (Fig. 26); (1) ausente.

A mancha apical refere-se a uma mancha distal à região onde o pseudostigma se encontra e que pode incluir o pseudostigma.

29. Mancha apical da asa posterior do macho: (0) presente (Fig. 27); (1) ausente.
30. Caráter 29 da lista de caracteres do item 3.1.
31. Posição em que o ápice das veias RA e RP₁ encontram a margem na asa anterior (Rehn, 2003 – caráter 85): (0) no ápice (Fig. 21B); (1) abaixo do ápice da asa, sendo próximo à margem anal da asa (Fig. 27).

De acordo com Rehn (2003), o estado de caráter 1 é uma sinapomorfia de Pseudostigmatidae do Novo Mundo e da espécie africana *Coryphagrion grandis*.

32. Caráter 31 da lista de caracteres do item 3.1.
33. Caráter 32 da lista de caracteres do item 3.1.
34. Caráter 33 da lista de caracteres do item 3.1.
35. Caráter 34 da lista de caracteres do item 3.1.
36. Caráter 36 da lista de caracteres do item 3.1.
37. Caráter 37 da lista de caracteres do item 3.1.
38. Caráter 38 da lista de caracteres do item 3.1.
39. Caráter 39 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 14.

Caracteres do abdômen

40. Caráter 41 da lista de caracteres do item 3.1.
 41. Posição da aleta no hâmulos anterior do macho: (0) exposta fora da cavidade genital (Fig. 34A); (1) posicionada dentro da cavidade genital (Fig. 34B).

Em *Mecistogaster linearis* e *M. lucretia* há indivíduos da mesma espécie que possuem a aleta exposta fora da cavidade genital e há indivíduos que possuem a aleta posicionada dentro da cavidade genital.

42. Caráter 43 da lista de caracteres do item 3.1.
 43. Caráter 44 da lista de caracteres do item 3.1.
 44. Projeção na região interna do cerco do macho: (0) presente (Fig. 38); (1) ausente.

O cerco de *Megaloprepus* é igual ao de *Microstigma*.

45. Caráter 46 da lista de caracteres do item 3.1.
 46. Caráter 47 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 45.

47. Caráter 48 da lista de caracteres do item 3.1.
 48. Caráter 50 da lista de caracteres do item 3.1.
 49. Caráter 51 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 1 do caráter 48.

50. Caráter 54 da lista de caracteres do item 3.1.
 51. Caráter 55 da lista de caracteres do item 3.1.

Caracteres do pênis

52. Pelos nas laterais do segmento I do pênis: (0) presente (Fig. 45); (1) ausente.
 53. Caráter 57 da lista de caracteres do item 3.1.
 54. Caráter 58 da lista de caracteres do item 3.1.
 55. Caráter 59 da lista de caracteres do item 3.1.
 56. Caráter 61 da lista de caracteres do item 3.1.
 57. Caráter 62 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 56.

58. Dobra extra, além da dobra interna, no segmento II do pênis em vista lateral: (0) presente (Fig. 55); (1) ausente.
 59. Alongamento dorsal da dobra terminal do pênis em vista lateral: (0) presente (Fig. 50); (1) ausente.

O alongamento dorsal foi considerado quando a dobra terminal se curva dorsalmente.

60. Caráter 64 da lista de caracteres do item 3.1.

Como *Bromeliagrion rehni* possui o segmento III do pênis reduzido, os caracteres 64-67 foram codificados como inaplicáveis.

61. Lobo ventral na base do segmento III do pênis em forma de flagelo em vista lateral: (0) presente (Fig. 51); (1) ausente (Fig. 55).

Caráter contingente ao estado 1 do caráter 60.

62. Caráter 66 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60.

63. Disposição dos espinhos no segmento III do pênis em forma de placa: (0) com dois tufos isolados (Fig. 56); (1) fileira contínua (Fig. 50)

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60.

64. Caráter 69 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60.

65. Caráter 70 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60.

66. Caráter 72 da lista de caracteres do item 3.1.

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60.

67. Desenvolvimento do afilamento do ápice do segmento III do pênis em forma de placa em vista dorsal: (0) abrupto, formando um lobo na ponta (Fig. 58); (1) gradativo (Fig. 59).

Caráter contingente ao estado 0 do caráter 60 e ao estado 0 do caráter 66.

Tabela 7. Matriz de caracteres usada na análise filogenética com dados morfológicos para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). “-” = caracteres inaplicáveis, “?” = dados faltantes, “0&1” = caracteres polimórfico. Os estados dos caracteres foram indicados com siglas de acordo com a literatura usada para as codificações: DM= De Marmels, 1984; MG= De Marmels & Garrison, 2005; G= Garrison, 1986; GA= Garrison *et al.*, 2010; KI= Kimmins, 1931; L= Lencioni, 2005; LE= Lencioni, 2017; MS= Machado & Soldati, 2017; R= Rehn, 2003; SA= Santos, 1979; EG= von Ellenrieder & Garrison, 2017; WM= Westfall & May, 2006.

6.2 Análise filogenética com dados morfológicos

Na análise do TNT com pesagem igual foram encontradas quatro árvores mais parcimoniosas com 181 passos (IC= 41 e IR= 73) e o consenso dessas árvores com os valores de suporte absoluto de Bremer (*suboptimal*= 7) e de Bootstrap está representado na Figura 11. Uma das quatro árvores mais parcimoniosas foi selecionada aleatoriamente para mostrar a evolução dos caracteres (Figura 12). Em todas as quatro árvores mais parcimoniosas encontradas, *Coryphagrion grandis* é táxon-irmão dos outros pseudostigmatídeos.

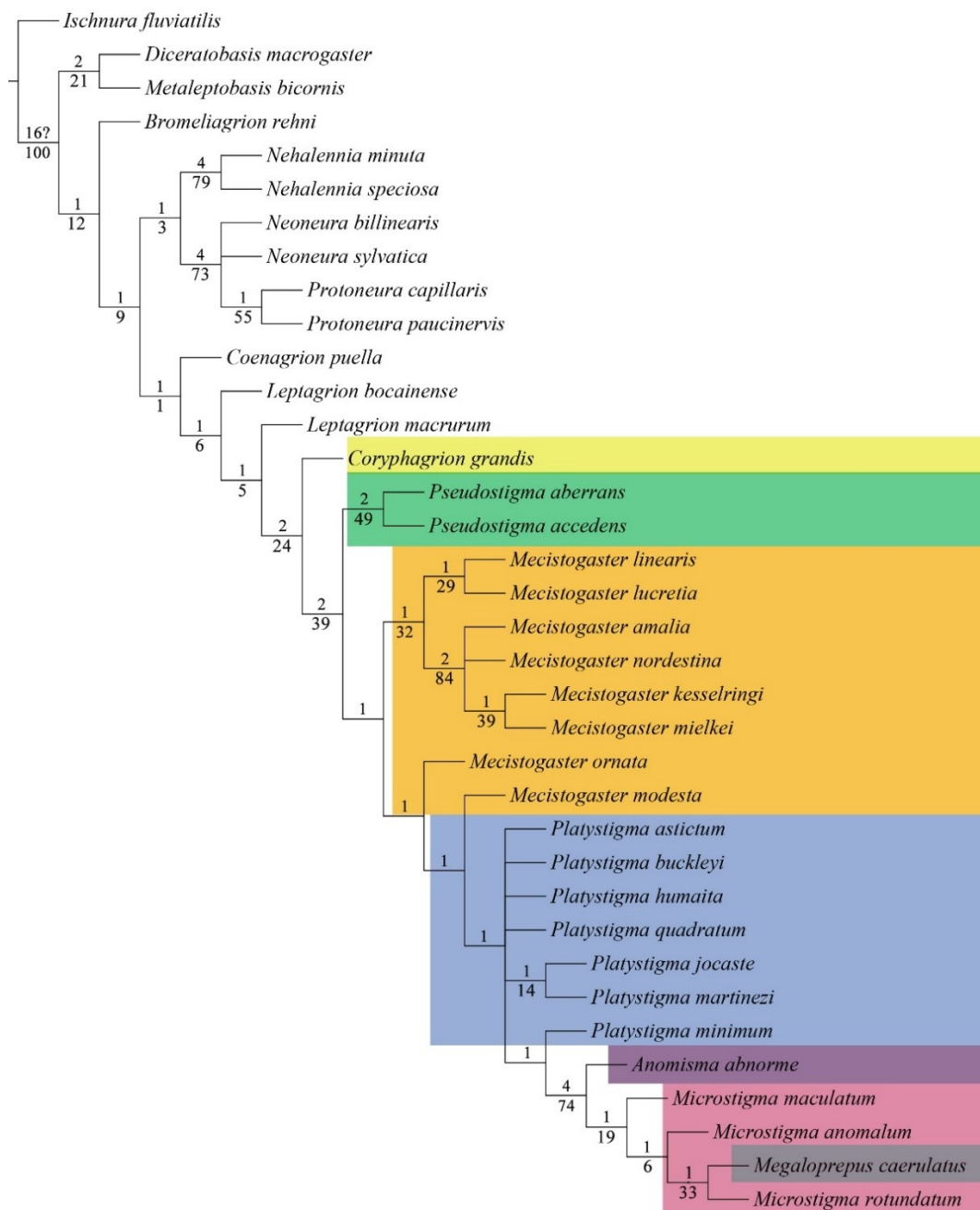


Figura 11. Consenso estrito de quatro árvores mais parcimoniosas obtidas através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem igual no *software* TNT (Passos= 181, IC= 41, IR= 73) para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= suporte absoluto de Bremer; número abaixo dos ramos= suporte de Bootstrap. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

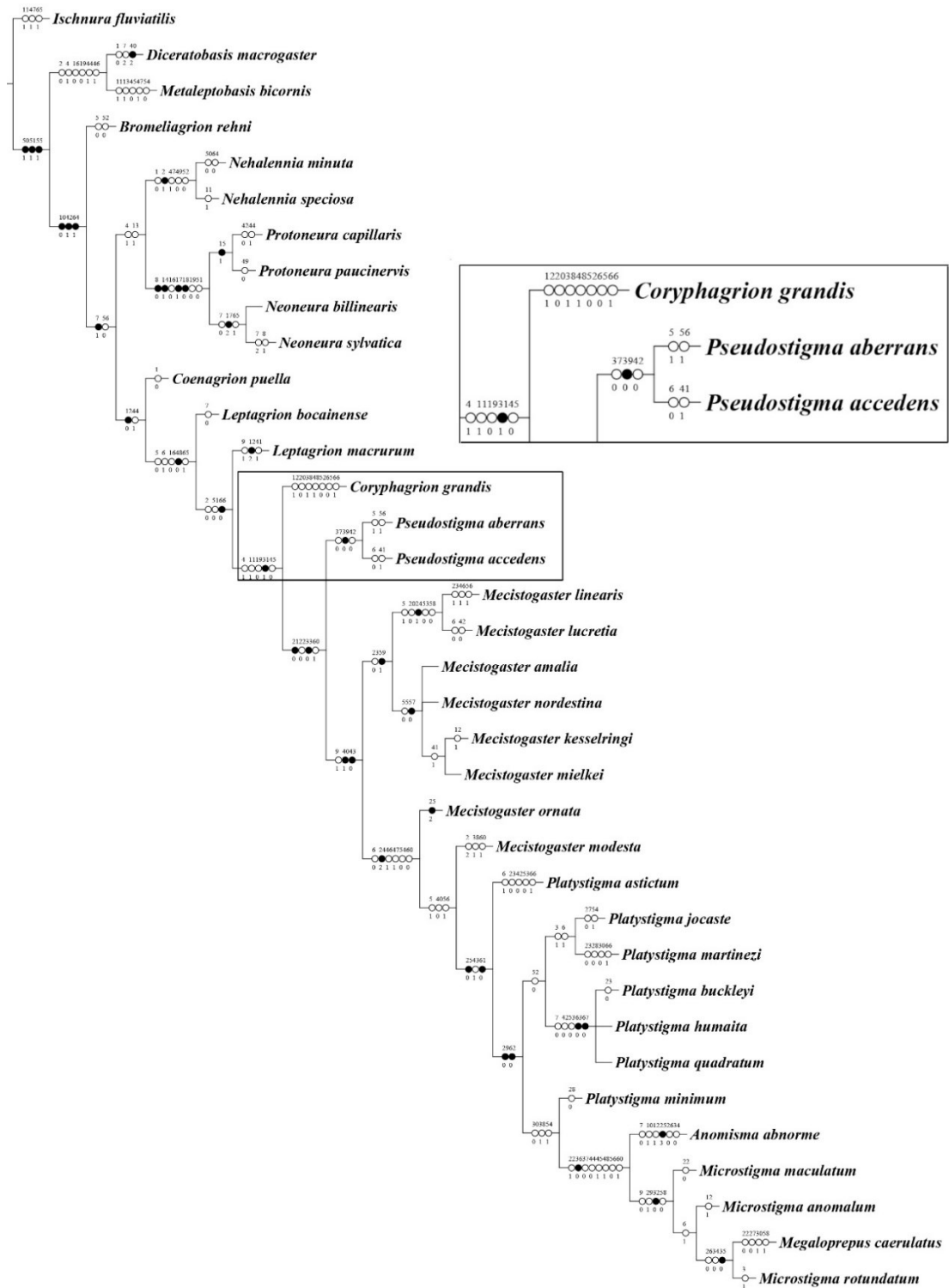


Figura 12. Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN em uma das quatro árvores mais parcimoniosas encontradas com pesagem igual na análise filogenética com dados morfológicos para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Círculos brancos= caracteres homoplásicos; círculos pretos= caracteres sinapomórficos; número acima dos ramos= número dos caracteres; número abaixo dos ramos= estados dos caracteres. Clado de interesse amplificado e delimitado por um retângulo preto.

Algumas espécies do grupo interno, a maioria descrita recentemente por Machado & Soldati (2017) e Soldati & Machado (2019) foram amostradas pela primeira vez em uma análise filogenética: *Mecistogaster kesselringi* Soldati & Machado, 2019, *M. mielkei* Soldati & Machado, 2019, *M. nordestina* Soldati & Machado, 2019, *Microstigma maculatum* Hagen in Selys, 1860, *Platystigma humaita* Machado & Soldati, 2017, *P. minimum* Machado & Soldati, 2017 e *P. quadratum* Machado & Soldati, 2017. *Coryphagrion grandis* é táxon-irmão de todos os outros pseudostigmatídeos neotropicais, relação suportada por quatro sinapomorfias homoplásicas (caracteres 4, 11, 19 e 45) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 31) referente à posição em que o ápice das veias RA e RP1 encontra a margem na asa anterior ser abaixo do seu ápice. *Pseudostigma* foi o único gênero monofilético e é suportado por duas sinapomorfias homoplásicas (caracteres 37 e 42) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 39) referente à presença da veia intercalar entre a veia CuA e a margem anal da asa anterior.

Na análise do TNT com pesagem implícita foram obtidas oito conjunto de árvores com maior similaridade em relação às outras de acordo com o resultado do *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) (Tabela 8 e Tabela 9). Os valores de k referentes a esses oito conjuntos de árvores foram 1.413, 1.659, 1.952, 2.306, 2.744, 3.298, 4.023 e 5.011 (Tabela 9). O valor de k escolhido foi aquele que possuía um conjunto de árvores com maior *fit* (k= 1.413) e o consenso das árvores geradas por esse valor de constante de concavidade foi usado como referência. Para esse valor de k= 1.413 foi encontrada uma única árvore mais parcimoniosa com 185 passos (IC= 40 e IR= 72) e *fit*= 24,50. A árvore mais parcimoniosa encontrada e a evolução dos caracteres estão apresentadas na Figura 13 com os valores de suporte relativo de Bremer (*suboptimal*= 6) e de Bootstrap.

Tabela 8. Valores de similaridade (movimentos SPR) produzidos pela comparação das topologias de 11 conjuntos de árvores mais parcimoniosas (fornecidas pelo *script* desenvolvido por Mirande em 2009) usando o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) para a reconstrução das relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). O resultado da soma dos valores de cada coluna (em negrito) representa o número total de rearranjos de um conjunto de árvores em relação a todos os 11 conjuntos de árvores obtidos. O menor valor da soma representa o conjunto de árvores com a topologia mais similar em comparação com os outros, o que define o melhor valor de k (ver Tabela 9). O conjunto de árvores selecionado está marcado de cinza escuro

Conjunto de árvores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	5
9	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4
10	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	4
11	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	0
SOMA=	7	7	7	7	7	7	7	7	12	12	48

Tabela 9. Valor de *k* para cada um dos 11 conjuntos de árvores gerado pelo *script* desenvolvido por Mirande (2009) para a reconstrução das relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de *k* escolhidos de acordo com os conjuntos de árvores selecionados na Tabela 8 e os números de árvores mais parcimoniosas encontradas para cada conjunto de árvores, assim como seus valores de *fit* estão marcados na cor cinza escuro

Conjunto de árvores	<i>k</i>	N árvores	<i>fit</i>
1	1.413	1	24.506
2	1.659	1	23.039
3	1.952	1	21.529
4	2.306	1	19.969
5	2.744	1	18.352
6	3.298	1	16.669
7	4.023	1	14.906
8	5.011	1	13.052
9	6.439	1	11.085
10	8.682	1	8.975
11	12.720	1	6.692

Na análise com pesagem implícita usando o *script* “setk” foi encontrada uma única árvore mais parcimoniosa com 185 passos (IC= 40 e IR= 72) e *fit*= 13,46, recuperada com o valor de *k*= 4,765, indicado pelo *script* como sendo o *k* “ótimo”. A árvore referente a esse *k* possui a mesma topologia e evolução dos caracteres apresentados na Figura 13.

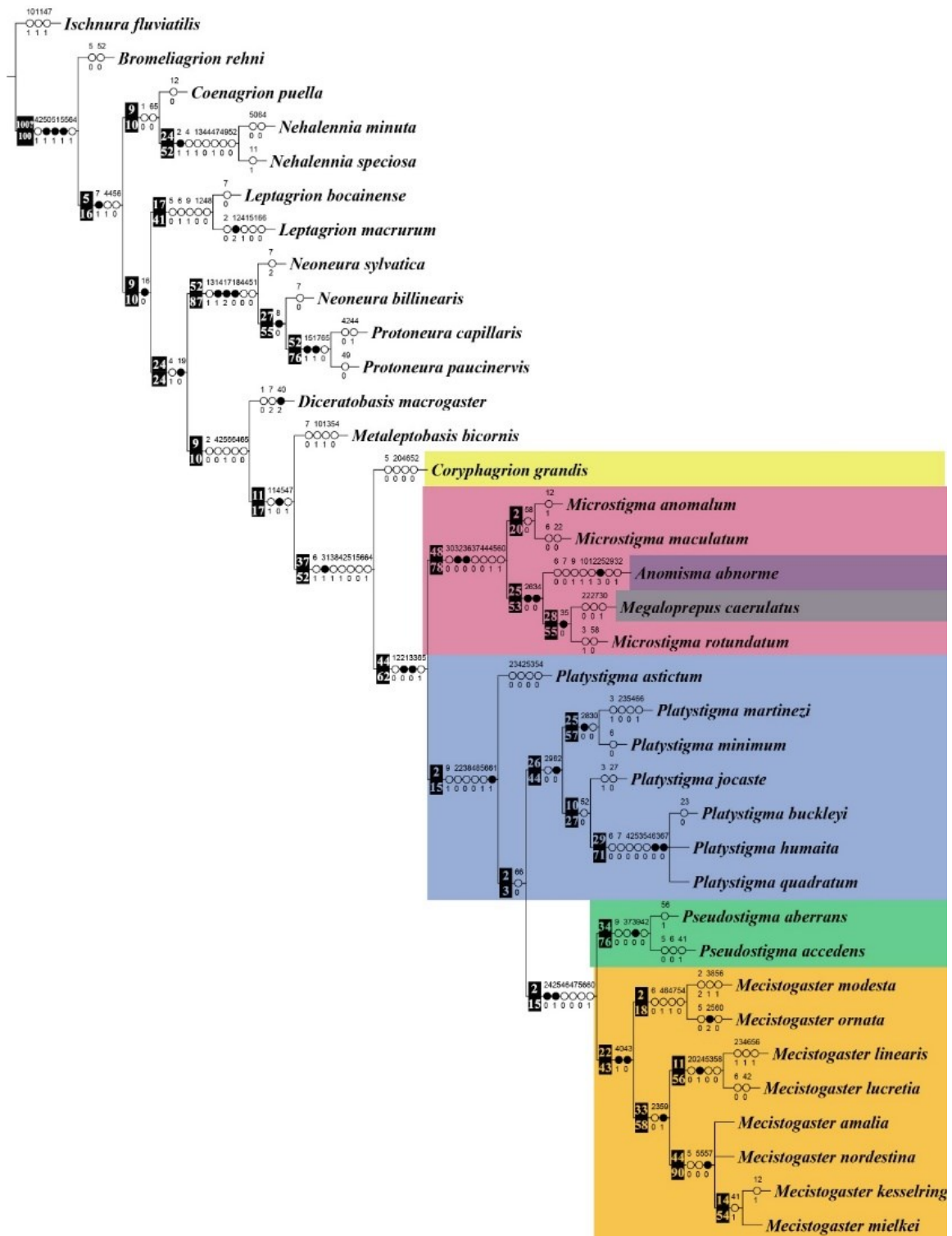


Figura 13. Otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação ACCTRAN na árvore mais parcimoniosa obtida através da análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita usando o *script* desenvolvido por Mirande (2009) em conjunto com o *script* “lazy” (Costa *et al.*, 2020) no *software* TNT ($k = 1,413$, passos= 185, IC= 40, IR= 72, *fit*= 24,50) para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). No retângulo preto, número acima dos ramos= suporte relativo de Bremer; número abaixo dos ramos= suporte de Bootstrap. Círculos brancos= caracteres homoplásicos; círculos pretos= caracteres sinapomórficos; número acima dos ramos= número dos caracteres; número abaixo dos ramos= estados dos caracteres. A árvore mais parcimoniosa obtida usando o *script* “setk” ($k = 4,765$, passos= 185, IC= 40 e IR= 72, *fit*=13,46) possui a mesma topologia, com a mesma otimização de caracteres. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

A árvore filogenética resultante das duas análises com dados morfológicos com pesagem implícita (Figura 13) forneceu uma melhor resolução das relações, principalmente entre as espécies de Pseudostigmatidae, comparada com o resultado da análise com dados morfológicos com pesagem igual. Portanto, a árvore acima (Figura 13) foi usada como base para a discussão detalhada das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae.

Nessas análises, Pseudostigmatidae é monofilética, sendo *Coryphagrion grandis* táxon-irmão de todos os outros pseudostigmatídeos, relação suportada por seis sinapomorfias homoplásicas (caracteres 6, 38, 42, 51, 56 e 64) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 31) referente ao ápice das veias RA e RP₁ encontrar a margem na asa anterior abaixo do seu ápice. *Microstigma* é parafilético em relação a *Anomisma* e *Megaloprepus*, gêneros monotípicos, sugerindo *Microstigma rotundatum* como pertencente ao gênero *Megaloprepus*, ou todas as espécies de *Microstigma* e *Anomisma abnorme* como representantes de *Megaloprepus* (gênero mais antigo). As sinapomorfias não-homoplásicas que suportam esse clado (caracteres 32 e 36) são, respectivamente, presença de veia intercalar entre as veias RA e RP na asa anterior e presença de ramificação dicotômica da veia RP₃ na asa anterior.

Platystigma é parafilético em relação a *Pseudostigma* e *Mecistogaster*, com *P. astictum* como táxon-irmão do clado composto por *Platystigma* (*Pseudostigma* + *Mecistogaster*). *Platystigma* se tornaria monofilético com a alocação de *P. astictum* em um novo gênero, devido ao seu posicionamento na árvore. Dentre os *Platystigma*, *P. astictum* é o único que não possui mancha apical na asa posterior do macho (caráter 29) e espinhos no segmento III do pênis (caráter 62). Além disso, *P. astictum* está distribuída em área de Mata Atlântica no sudeste do Brasil, enquanto que os outros representantes do gênero (exceto *P. pronoti*) ocorrem na região Amazônica no norte do país ou em outros países latino-americanos. Apesar dessa distribuição disjunta, juntamente com os caracteres morfológicos que a difere das outras espécies trazerem certo suporte para a transferência de *P. astictum* para um novo gênero, essa possibilidade deve ser analisada com mais detalhes. Essa lacuna na distribuição pode estar relacionada à dificuldade em encontrar indivíduos em seu habitat natural e falta de coletas. Além disso, o comportamento reprodutivo da espécie e características morfológicas das ninfas podem fornecer novas evidências.

Nas relações entre as espécies de *Platystigma*, *P. martinezi* (Machado 1985) e *P. minimum* Machado & Soldati, 2017, esta última descrita recentemente e nunca usada em um estudo filogenético (Machado & Soldati, 2017), são proximamente relacionadas, suportadas por uma sinapomorfia homoplásica (caráter 30) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 28) referente à presença de mancha apical na asa anterior do macho. Já a relação entre as outras três espécies de *Platystigma* (*P. buckleyi*, *P. humaita* e *P. quadratum*) é incerta e compartilham duas sinapomorfias não-homoplásicas, uma delas é referente aos espinhos na lateral do segmento III do pênis em forma de placa estarem dispostos em dois tufo isolados (caráter 63) e o outro é o afilamento do ápice do segmento III do pênis que acontece de forma

abrupta, formando um lobo (caráter 67). Essa incerteza do relacionamento entre essas três espécies reflete a similaridade morfológica que possuem.

Pseudostigma e *Mecistogaster* são monofiléticos, grupos-irmãos e possuem uma relacionamento filogenético próximo à *Platystigma*. Ingley *et al.* (2012) haviam mencionado a necessidade de uma maior amostragem de *Mecistogaster* para definir o posicionamento de *Pseudostigma*. No presente estudo, único que incluiu todas as espécies de *Mecistogaster*, *Pseudostigma* é clado-irmão de *Mecistogaster* e esse relacionamento é suportado por quatro sinapomorfias homoplásicas (caracteres 46, 47, 56 e 60) e duas sinapomorfias não-homoplásicas, uma referente à acentuada angulação da dilatação costal anterior ao ápice da asa (caráter 24), mas que não se aplica a *Pseudostigma* já que esse gênero não possui dilatação costal na asa, e a outra refere-se à duas fileiras de células ocupadas completamente pelo pseudostigma na asa anterior do macho (caráter 25). Ao observar a otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação DELTRAN, o relacionamento de *Pseudostigma* com *Mecistogaster* é suportado por uma sinapomorfia homoplásica (caráter 60) e duas sinapomorfias não-homoplásicas (caracteres 25 e 61). O caráter 61 refere-se à ausência de lobo ventral na base do segmento III do pênis em forma de flagelo, caráter não aplicável a *M. ornata*, já que o seu pênis é em forma de placa.

O clado de *Pseudostigma* é suportado por três sinapomorfias homoplásicas (caracteres 9, 37 e 42) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 39) referente à presença de veia intercalar entre a veia CuA e a margem anal da asa anterior. O clado de *Mecistogaster* é suportado por duas sinapomorfias não-homoplásicas, uma referente ao formato retangular da vesícula seminal (caráter 40), e a outra refere-se à presença de carena na parte interna do cerco do macho (caráter 43).

Mecistogaster ornata é a única espécie dentro do gênero que possui o segmento III do pênis em forma de placa, característica de *Platystigma*. Porém, nesse segmento em forma de placa de *M. ornata* não há espinhos, enquanto que em *Platystigma* os espinhos estão presentes. Devido a essa característica em forma de placa do pênis de *M. ornata*, que a diferencia dos outros *Mecistogaster*, Kennedy (1920) designou um novo gênero *Xanthostigma*, onde essa espécie seria alocada. Além disso, *M. ornata* se diferencia dos outros Pseudostigmatidae por possuir três fileiras de células ocupadas completamente pelo pseudostigma na asa anterior do macho (caráter 25). Essas características trazem importantes evidências taxonômicas, mas no contexto filogenético podem gerar outras hipóteses. Na filogenia apresentada, *M. ornata* está aninhada em *Mecistogaster*, como táxon-irmão de *M. modesta*.

Mecistogaster lucretia e *M. linearis* são táxons-irmãos, unidos por três sinapomorfias homoplásicas (caracteres 20, 53 e 58) e uma sinapomorfia não-homoplásica (caráter 24), que refere-se à moderada angulação da dilatação costal anterior ao ápice da asa, mas que é presente apenas em *M. lucretia*, já que *M. linearis* não possui dilatação costal na asa. Ao observar a otimização dos caracteres de acordo com o critério de transformação DELTRAN, a relação entre *M. linearis* e *M. lucretia* não apresenta sinapomorfia, já que a dilatação costal anterior ao ápice da asa está ausente em *M. linearis*, já mencionado acima.

Já *M. kesselringi* e *M. mielkei* são espécies-irmãs e este clado está em uma tricotomia com *M. nordestina* e *M. amalia*, sendo que estas três primeiras espécies, descritas

por Soldati & Machado (2019), foram usadas pela primeira vez em um estudo filogenético. Essa tricotomia foi suportada pela sinapomorfia não-homoplásica da direção da dobra interna no segmento II do pênis estar voltada distalmente (caráter 57). A falta de clareza na relação entre essas quatro espécies reflete a similaridade morfológica que possuem.

6.3 Análise filogenética com dados moleculares

O comprimento final de cada fragmento foi de 392 pares de bases (pb) para 16S, 1362 pb para 28S e 656 pb para COI. Do total de 23 espécies do grupo interno e 13 dos grupos externos selecionadas *a priori* para o estudo, foram utilizadas, respectivamente, 18 e dez espécies, as quais possuíam sequências disponíveis ou tiveram o seu DNA sequenciado, sendo o enraizamento em *Ischnura fluviatillis*. O Anexo 11 apresenta a lista de espécies utilizadas na análise filogenética com dados moleculares, indicando aquelas que possuem suas sequências disponíveis no Genbank e aquelas que tiveram seu DNA sequenciado para cada um dos três genes usados.

Os três genes concatenados resultaram em uma matriz de 28 terminais e 2410 caracteres. A árvore obtida pela análise de IB está representada na Figura 14. O resultado da análise de MV está representado na Figura 15.

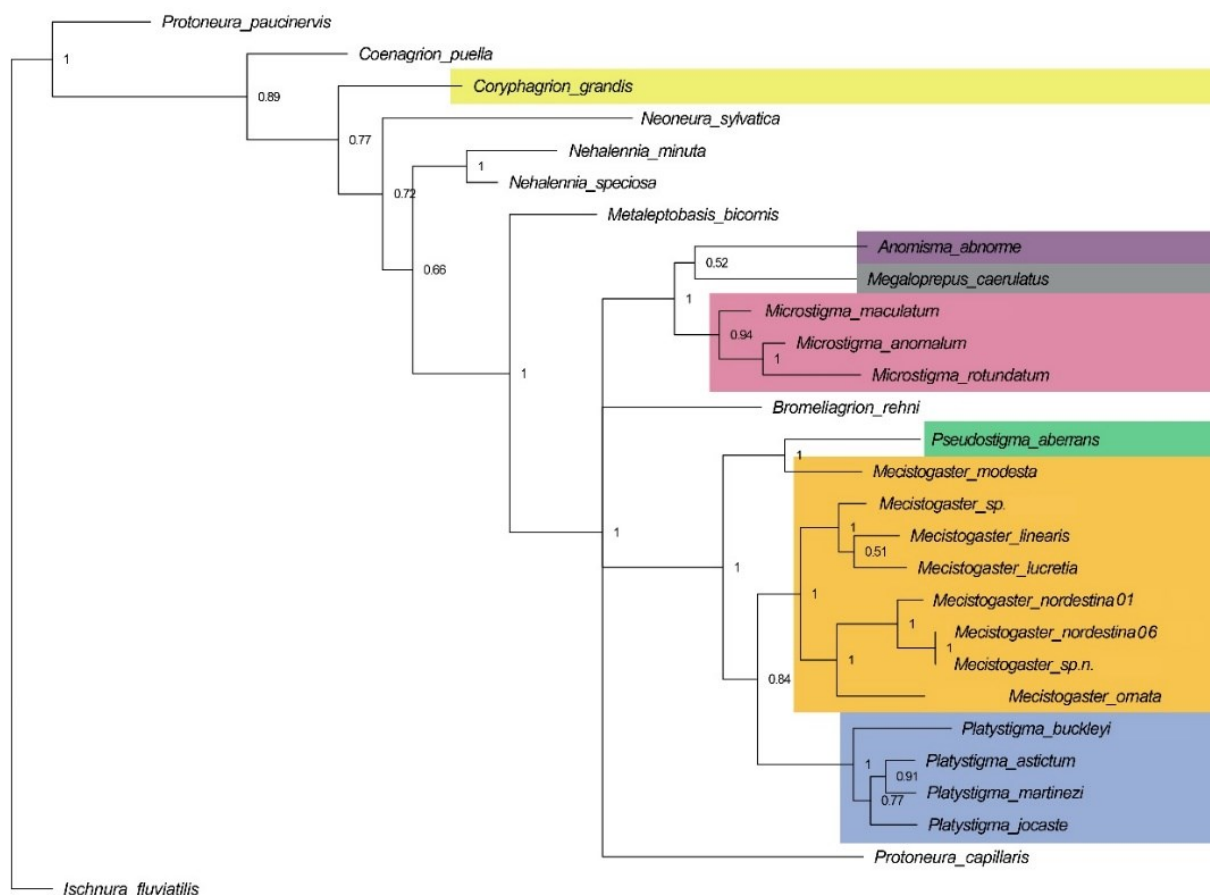


Figura 14. Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Inferência Bayesiana utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* MrBayes para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de Probabilidade Posterior (PP) estão representados próximos aos nós. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

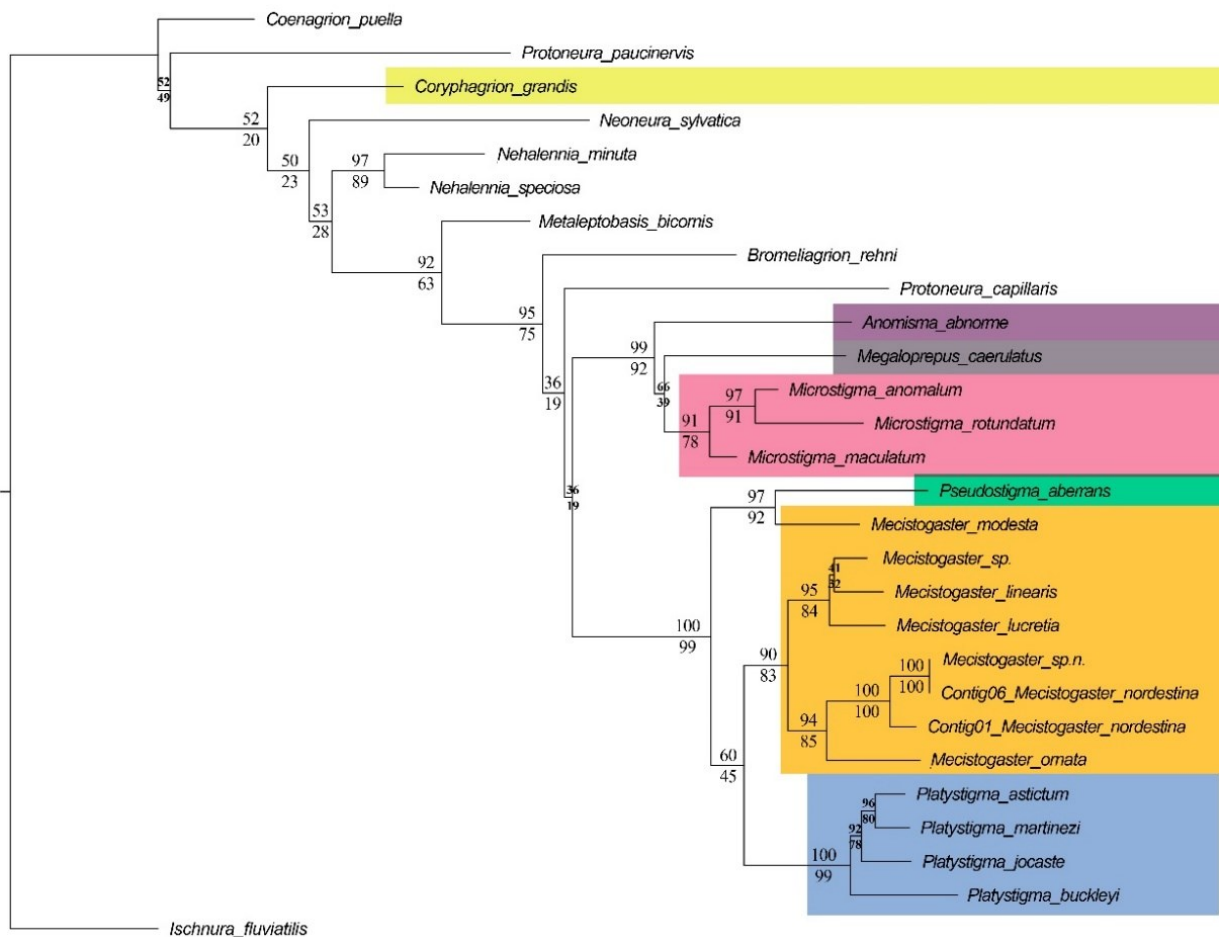


Figura 15. Filogenia com dados moleculares resultante da análise de Máxima Verossimilhança utilizando os genes 16S, 28S e COI concatenados realizada no *software* IQTree para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método ultra-rápido; número abaixo dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método não-paramétrico. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

As dez repetições da análise de MV realizadas com os dados moleculares obtiveram a mesma topologia. No resultado da análise de IB, *Coryphagrion grandis* está posicionado entre as espécies dos grupos externos e os Pseudostigmatidae neotropicais estão formando uma politomia com *Bromeliagrion rehni* e *Protoneura capillaris*. *Metaleptobasis bicornis* é táxon-irmão dessa politomia, com alto suporte de PP. No resultado da análise de MV, *C. grandis* se mantém junto aos grupos externos e os outros pseudostigmatídeos são grupo-irmão de *Protoneura capillaris*, com baixo suporte de *bootstrap*. As relações entre as espécies de Pseudostigmatidae no resultado da IB, com exceção de *Anomisma abnorme* e *Megaloprepus caerulatus*, obtiveram a mesma topologia apresentada no resultado da análise de MV. Porém, o resultado desta última análise forneceu uma melhor resolução das relações entre os gêneros de Pseudostigmatidae. Devido a isso, a filogenia resultante da análise de MV foi usada como base para a discussão dos relacionamentos intergenéricos e interespecíficos.

Foi amostrado 70% das espécies que compõem Pseudostigmatidae. Além disso, foram incluídas sequências de um *Mecistogaster* sp., um *Mecistogaster* sp.n. e de dois exemplares identificados como *Mecistogaster nordestina* a fim de verificar o posicionamento desses táxons, já que haviam dúvidas sobre as suas identificações.

No resultado da análise de MV a monofilia dos gêneros é recuperada, exceto *Mecistogaster*, sendo *M. modesta* táxon-irmão de *Pseudostigma aberrans*, mesma relação filogenética com alto suporte de *bootstrap* e PP apresentada por Feindt *et al.* (2014) que usou os genes 16S e ND1 e Toussaint *et al.* (2019) que usou nove genes. Ao observar a morfologia, *Mecistogaster modesta* se diferencia de *P. aberrans* e compartilha com os outros *Mecistogaster* diversas características como ausência de ramificação dicotômica da veia RP₃ na asa anterior, ausência de veia intercalar entre a veia CuA e a margem posterior da asa anterior, presença de carena na parte interna do cerco do macho, e curvatura medial na região distal do cerco do macho. Além disso, segundo o relacionamento apresentado no resultado da análise com dados morfológicos, dentre os *Mecistogaster*, *M. modesta* compartilha com *M. ornata* a ausência de esporão na região apical do cerco do macho e tufo de cerdas na lateral da região distal do segmento II, diferentemente de *P. aberrans*. Esses fatores fornecem maior segurança para manter a hipótese filogenética apresentada com dados morfológicos, especialmente por incluir todas as espécies de *Mecistogaster* e *Pseudostigma*.

Microstigma é monofilético, clado-irmão de *Megaloprepus caerulatus*. *Mecistogaster anomalum* é proximamente relacionada a *M. rotundatum* com alto suporte de *bootstrap*. *Microstigma* e *Megaloprepus* são grupos-irmão de *Anomisma abnorme*, mesmos resultados encontrados por Feindt *et al.* (2014) e Toussaint *et al.* (2019), que também encontraram alto suporte para a relação entre os *Microstigma*.

Mecistogaster sp., espécie que pode se tratar de uma espécie nova é táxon-irmão de *M. linearis*. Já *Mecistogaster* sp.n. e *M. nordestina_06* parecem ser a mesma espécie, o que indica que esta última seria um *Mecistogaster* sp.n., ou a espécie supostamente nova seria *M. nordestina_06*. Essas duas espécies são táxons-irmãos de *M. nordestina_01*, sugerindo que essas espécies precisam de atenção, incluindo mais estudos morfológicos e moleculares para a definição das espécies. Devido à escassez de dados moleculares, não é possível discutir o relacionamento entre os pseudostigmatídeos e, portanto, foram feitas comparações com trabalhos anteriores que usaram dados semelhantes.

Além disso, no resultado dessa análise, *M. ornata* é mais proximamente relacionada a *M. nordestina* em relação aos outros *Mecistogaster*. Esse relacionamento não possui suporte morfológico já que suas características são divergentes, sendo *M. nordestina* morfológicamente mais similar às outras espécies de *Mecistogaster* do que de *M. ornata*.

Segundo o resultado da análise de MV, *Platystigma* é monofilético. Assim como em Feidt *et al.* (2014) e Toussaint *et al.* (2019), no presente estudo *P. astictum*, *P. martinezi* e *P. jocaste* formam um clado com elevado suporte de *bootstrap*. Porém, em Feidt *et al.* (2014), *P. astictum* é mais proximamente relacionado a *P. jocaste*, enquanto que o presente estudo corrobora ao resultado de Toussaint *et al.* (2019), no qual *P. astictum* é táxon-irmão de *P. martinezi*, ambos com alto suporte de *bootstrap*

e PP. O relacionamento entre essas duas espécies é suportado por três características morfológicas estruturais não compartilhadas por *P. jocaste*: presença de dilatação costal anterior ao ápice da asa, na asa posterior do macho; presença de cerdas nas laterais da região distal do segmento II do pênis; e segmento III do pênis em forma de placa em vista dorsal não afilado na região apical. Já *P. astictum* e *P. jocaste* compartilham apenas duas características não compartilhadas por *P. martinezi* e estas são apenas de coloração.

6.4 Análise filogenética com dados morfológicos e moleculares combinados

A análise com os Mor-Mol resultou em uma matriz de 27 terminais e 2477 caracteres. O enraizamento foi feito em *Ischnura fluviatillis*. A árvore obtida pela análise de IB está representada na Figura 16. O resultado da análise de MV está representado na Figura 17. As dez repetições da análise de MV realizadas com os Mor-Mol obtiveram a mesma topologia.

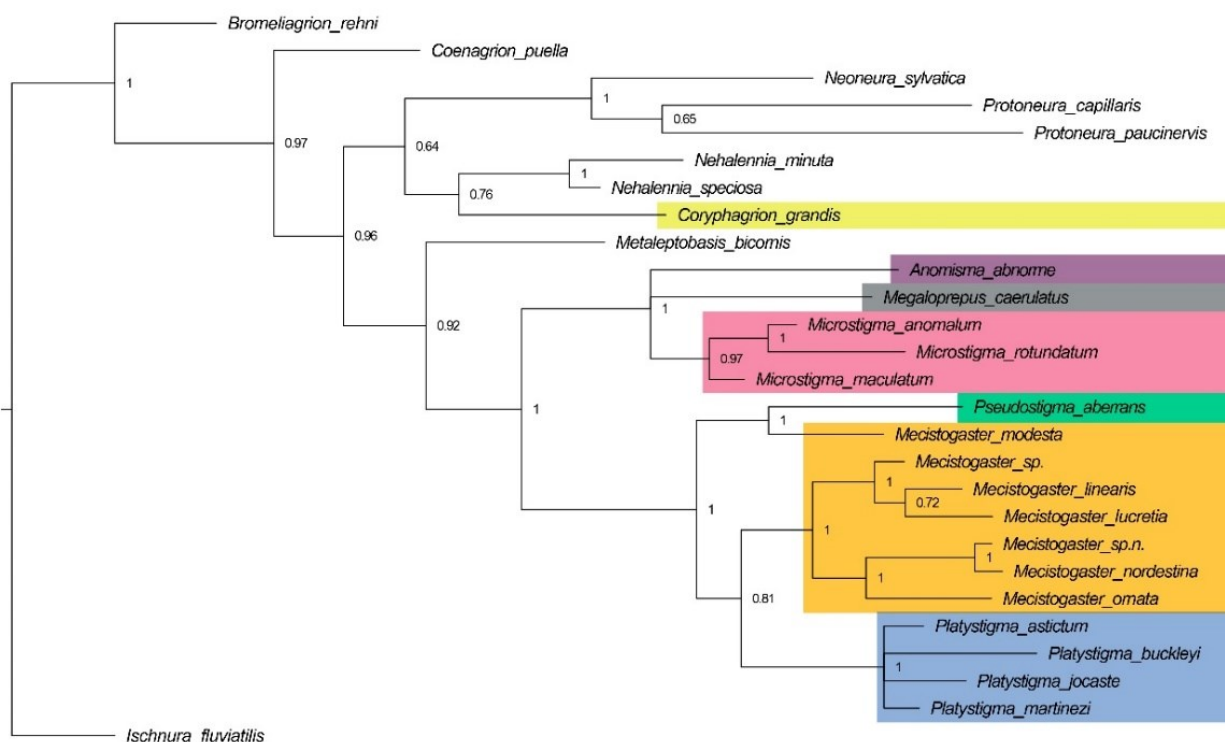


Figura 16. Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Inferência Bayesiana realizada no *software* MrBayes para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Os valores de Probabilidade Posterior (PP) estão representados próximos aos nós. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

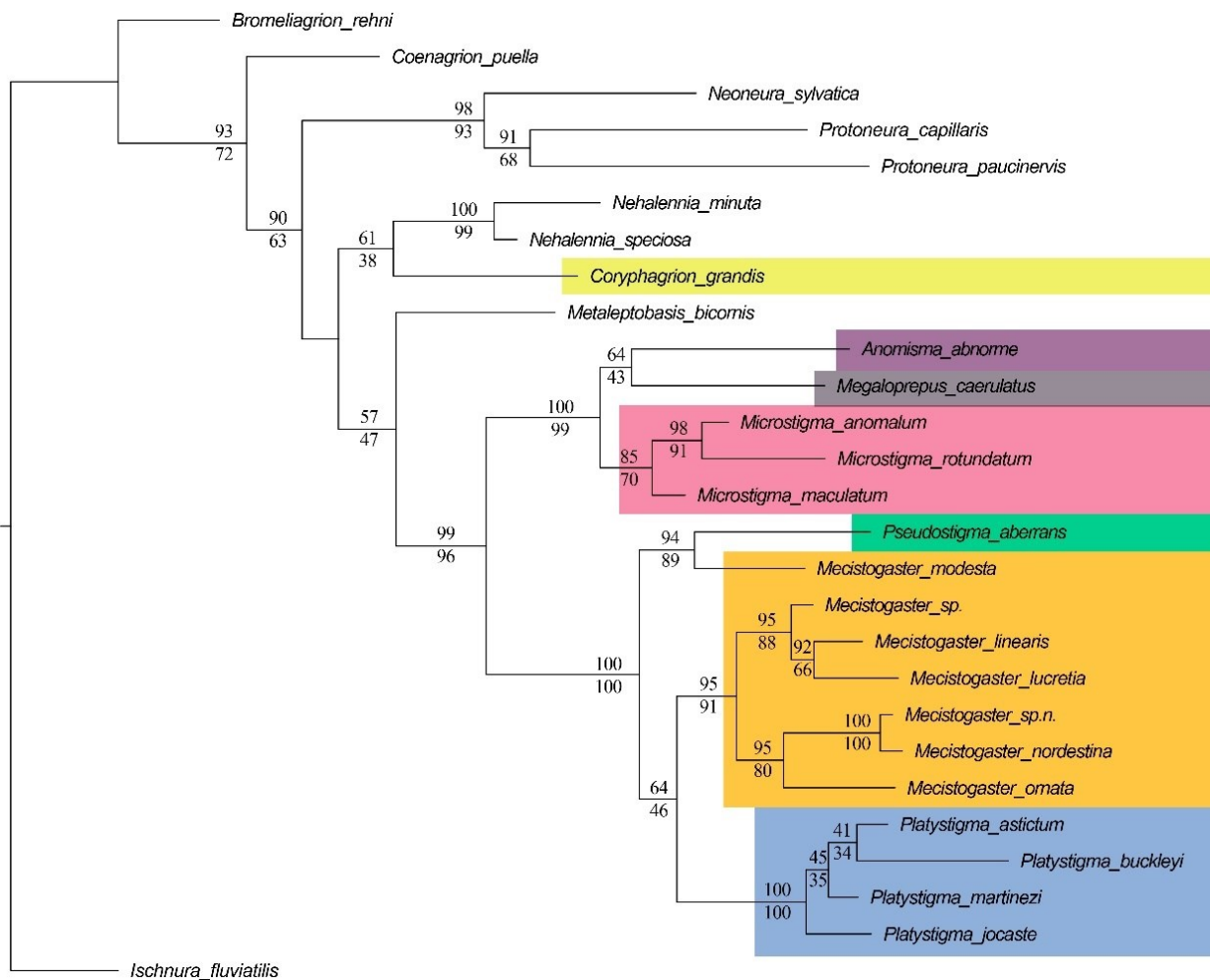


Figura 17. Filogenia com dados morfológicos e moleculares combinados resultante da análise de Máxima Verossimilhança realizada no *software* IQTree para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Número acima dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método ultra-rápido; número abaixo dos ramos= valores de *bootstrap* obtidos através do método não-paramétrico. Apenas os gêneros pertencentes ao grupo interno estão destacados com cores.

Nos resultados das análises de MV e IB, *Coryphagrion grandis* é táxon-irmão de *Nehalennia*, com baixo suporte de PP e de *bootstrap*. *Metaleptobasis bicornis* é táxon-irmão de todos os outros Pseudostigmatidae em ambas as análises, com baixo suporte de PP e de *bootstrap*. As relações filogenéticas entre as espécies de *Microstigma*, *Pseudostigma* + *Mecistogaster*, e dentro de *Mecistogaster* são as mesmas apresentadas no resultado da análise de MV com dados moleculares, portanto as discussões feitas anteriormente se mantêm para o resultado da análise com Mor-Mol. Nesta filogenia, as relações filogenéticas entre *Anomisma*, *Megaloprepus* e *Microstigma* e entre *Pseudostigma* e *Mecistogaster* corroboram aos resultados apresentados por Ingley *et al.* (2012).

As diferenças apresentadas entre o resultado da análise de MV com dados moleculares e com Mor-Mol são *Anomisma* e *Megaloprepus* como táxons-irmãos, e *Platystigma astictum* como táxon-irmão de *P. buckleyi*, todos com baixo suporte. No primeiro caso, *Megaloprepus caerulatus* possui características morfológicas mais similares à *Microstigma* do que *Anomisma abnorme*. Tanto *Megaloprepus*, quanto *Microstigma* possuem a asa mais expandida transversalmente, já que compartilham,

por exemplo, a presença de veias intercalares entre as veias RA e RP na asa anterior. No segundo caso, *P. astictum* e *P. buckleyi* compartilham dois caracteres estruturais que são presença de lobos na região distal mediana do S10 do macho em vista dorsal e presença de cerdas nas laterais da região distal do segmento II do pênis. Apesar disso, a relação próxima de *P. astictum* com *P. martinezi*, apresentada no resultado das análises com dados moleculares possui alto suporte *bootstrap* e PP e é morfológicamente suportada por três características, fornecendo mais evidência para esta hipótese. No resultado da análise de IB esses relacionamentos não estão resolvidos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo apresenta a primeira hipótese filogenética que reflete a diversidade encontrada em Pseudostigmatidae. As árvores filogenéticas resultantes das análises com dados morfológicos indicaram *Coryphagrion grandis* como táxon-irmão dos Pseudostigmatidae. Ao contrário, nas análises que usaram dados moleculares, *C. grandis* está posicionada junto aos grupos externos. Esse relacionamento próximo entre a espécie africana *C. grandis* e as espécies neotropicais se deve não apenas à similaridade morfológica, mas também à ocupação de nichos semelhantes e mesmos hábitos alimentares e de oviposição. Portanto, mantém-se a proposta de *C. grandis* como um representante de Coenagrionidae, já indicado no *Estudo 1*.

A proposta de divisão de Pseudostigmatidae nas subfamílias Mecistogastrinae e Pseudostigmatinae sugeridas, respectivamente por Bechly (1996) e Munz (1919), não se aplica aqui. Os resultados mostram claramente que *Mecistogaster* e *Platystigma* não formam um clado, assim como *Pseudostigma* não é proximamente relacionado a *Anomisma*, *Megaloprepus* e *Microstigma*.

Um dos estudos pela primeira vez realizado foi a verificação da monofilia do gênero *Platystigma* com base em análises filogenéticas. Devido aos resultados divergentes apresentados pela análise com dados morfológicos e pelas análises com dados moleculares e Mor-Mol, se fazem necessárias novas análises com dados moleculares incluindo todos os representantes do gênero, a fim de obter mais informações e evidências.

Os dados moleculares foram essenciais para complementar a elucidação do relacionamento entre os gêneros, porém o relacionamento entre as espécies de alguns gêneros permanecem dúbios, já que não foi possível amostrar todas as espécies de Pseudostigmatidae. Portanto, análises com dados moleculares incluindo as espécies ainda não amostradas e o uso de outros genes mitocondrias serão essenciais para uma melhor definição de hipóteses do relacionamento entre as espécies, especialmente de *Mecistogaster* e *Platystigma*. Essas análises oferecerão novas contribuições para a classificação de Pseudostigmatidae, família que até agora permanecia com muitas incertezas.

CAPÍTULO 2 Taxonomia de *Mecistogaster* Rambur, 1842 e *Platystigma* Kennedy, 1920 (Odonata, Zygoptera, Pseudostigmatidae)

RESUMO

Os gêneros *Mecistogaster* e *Platystigma* são encontrados na América do Sul e América Central e necessitam de revisão taxonômica. *Mecistogaster* inclui espécies e subespécies com status taxonômico mal definido, descritas de forma incompleta e com base em caracteres que são variáveis. No presente estudo, foi feito um estudo taxonômico das espécies desses dois gêneros, resultando na redescrição dos machos de *Mecistogaster linearis*, *M. ornata*, *Platystigma buckleyi* e *P. jocaste*, e na criação de uma chave taxonômica atualizada de *Mecistogaster* com fotografias dos principais caracteres. Adicionalmente, é sugerida a sinonímia de *Mecistogaster kesselringi*, *M. nordestina* e *M. mielkei* com *M. amalia*, assim como de *Platystigma humaita* e *P. quadratum* com *P. buckleyi*.

Palavras-chave: Neotrópico, taxonomia, Pseudostigmatidae, Zygoptera.

ABSTRACT

The genera *Mecistogaster* and *Platystigma* are found in South and Central America and need taxonomic revision. *Mecistogaster* includes many species and subspecies with poorly defined taxonomic status, incompletely described and based on characters that are variable. In the present study, a taxonomic study of the species of these two genera was carried out, resulting in the redescription of males of *Mecistogaster linearis*, *M. ornata*, *Platystigma buckleyi* and *P. jocaste*, and in the development of an updated taxonomic key of *Mecistogaster* with photographs of the main characters. Additionally, the synonymy of *Mecistogaster kesselringi*, *M. nordestina* and *M. mielkei* with *M. amalia* is suggested, as well as of *Platystigma humaita* and *P. quadratum* with *P. buckleyi*.

Keywords: Neotropical, taxonomy, Pseudostigmatidae, Zygoptera.

8 INTRODUÇÃO

Mecistogaster Rambur, 1842 é representado por cinco espécies com distribuição na Região Neotropical (Garrison *et al.*, 2010): *M. amalia* (Burmeister, 1839), *M. linearis* (Fabricius, 1776) [espécie-tipo], *M. lucretia* (Drury, 1773), *M. modesta* Selys, 1860 e *M. ornata* Rambur, 1842. São espécies de grande porte (asa posterior 5–7 cm, abdômen 7–14 cm), consideradas umas das maiores libélulas conhecidas; o pênis apresenta dobra interna (exceto *M. linearis* e *M. modesta*), sendo o terceiro segmento do pênis em forma de flagelo (Machado & Soldati, 2017), com exceção de *M. ornata* que possui o pênis em forma de placa afilando gradativamente em direção ao ápice.

O gênero *Platystigma* Kennedy, 1920, tratado como sinônimo de *Mecistogaster* por Garrison *et al.* (2010), foi recentemente revalidado por Machado & Soldati (2017) e é representado por seis espécies com distribuição na América do Sul: *P. astictum* (Selys, 1860), *P. buckleyi* (McLachlan, 1881), *P. jocaste* (Hagen, 1869) [espécie-tipo], *P. martinezi* (Machado 1985), *P. minimum* Machado & Soldati, 2017 e *P. pronoti* (Sjöstedt, 1918). São espécies de pequeno a médio porte (asa posterior 3-5 cm, abdômen 5–7 cm); pênis com ausência de dobra interna, sendo o terceiro segmento do pênis em forma de placa com pequenos dentes ou tufo de espinhos na lateral (Machado & Soldati, 2017).

Os adultos desses gêneros voam nos sub-bosques das florestas e possuem um comportamento exclusivo de alimentação, capturando aranhas e as presas das aranhas diretamente na teia (Fincke, 1984). Assim como os outros Pseudostigmatidae, as fêmeas de *Mecistogaster* e *Platystigma* ovipõem em fitotelmata (Garrison *et al.*, 2010; Machado & Soldati, 2017). Porém, as espécies estão adaptadas a ovipor em fitotelmatas específicas. As ninfas de *Mecistogaster modesta* vivem em água acumulada nos tanques de bromélias epífitas (Calvert, 1911), enquanto que as ninfas de *M. amalia*, *M. linearis*, *M. ornata* e *P. jocaste*, e possivelmente de *M. lucretia*, se desenvolvem em água acumulada em buracos de troncos de árvores (Corbet, 1999; Muzón *et al.*, 2010; Fincke, 1984; Fincke, 1992; Ramírez, 1995). Machado & Martínez (1982) registraram para *Platystigma martinezi* (identificada erroneamente como *P. jocaste*) um tipo de oviposição por lançamento em tronco de árvore morto. Porém, essa observação foi considerada um erro por Garrison *et al.* (2010) e foi também questionada por Lencioni (Comunicação Pessoal, 2021). De acordo com Lencioni, *P. martinezi* ovipõe em colmos de bambu, assim como registrado para *P. astictum* (Lencioni, 2006) e para *P. jocaste* (Louton *et al.*, 2006).

Machado & Soldati (2017) e Soldati & Machado (2019) apresentaram, respectivamente, a primeira e única chave dos adultos machos e fêmeas das espécies de *Platystigma*, e dos adultos machos de *Mecistogaster*, sendo esta última de espécies ocorrentes na Mata Atlântica, não existindo ainda uma chave taxonômica que compreenda todas as espécies deste gênero. Para maiores informações sobre as espécies de *Mecistogaster* e *Platystigma* que possuem ninfas e fêmeas descritas, assim como chaves de identificação, verifique a tabela no Anexo 14.

Machado & Lacerda (2016), Machado & Soldati (2017) e Soldati & Machado (2019) contribuíram significativamente para a taxonomia de *Mecistogaster* e *Platystigma*. Apesar disso, algumas espécies desses dois gêneros permanecem inadequadamente descritas e com ausência de figuras, como *M. linearis*, *M. modesta*, *M. ornata*, *P. buckleyi* e *P. jocaste*. Portanto, foi proposto o estudo taxonômico de *Mecistogaster* e *Platystigma* com a redescritção de espécies, assim como a construção de uma chave taxonômica de identificação para os machos de *Mecistogaster* e a atualização da chave taxonômica de identificação para os machos de *Platystigma*.

9 MATERIAL E MÉTODOS

O material examinado está depositado nas seguintes instituições, com seus respectivos curadores:

CCT-UFMG – Coleção A.B.M. Machado do Centro de Coleções Taxonômicas da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil – Dr. Fernando A. Silveira;

MCZ – Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, Estados Unidos – Dra. Crystal Maier;

MFN – Museum für Naturkunde, Berlim, Alemanha – Dr. Jürgen Deckert;

NHM – Natural History Museum, Londres, Reino Unido – Dr. Benjamin Price.

Os tipos foram examinados e fotografados em suas instituições depositárias. O holótipo de *Mecistogaster linearis* está perdido, tendo sido o seu parátipo examinado através de fotografias enviadas pelo MFN, já que a diagnose dessa espécie apresentada em Soldati & Machado (2019) foi baseada na literatura. Não foi possível o acesso ao tipo de *M. modesta*, sendo que os cinco síntipos estão depositados na coleção de Selys, no Instituto de Ciências Naturais da Bélgica. *Mecistogaster ornata* foi redescrita com base no síntipo.

Cada espécie redescrita possui uma lista sinonímica, esta composta por trabalhos que trazem contribuições taxonômicas. Os sinônimos indicados com um asterisco (*) foram baseados no Catálogo de Odonata do Mundo (Paulson, Schorr & Deliry, 2021).

As informações contidas nas etiquetas dos tipos estudados foi transcrita de forma literal, sendo as informações inseridas entre aspas. As informações contidas em etiquetas diferentes foram separadas por ponto e vírgula, e linhas na mesma etiqueta foram separadas por vírgula. Informações adicionais foram colocadas após a transcrição literal entre colchetes na seguinte ordem: País, Província do Estado, Município, localidade específica, data de coleta, coletor leg., coordenadas geográficas (quando disponível na base de dados online da coleção), número de registro da coleção.

A terminologia adotada para a asa seguiu a proposta de Riek & Kukalova-Peck (1984), modificada por Rehn (2003). Foram utilizadas as seguintes abreviaturas para as estruturas morfológicas: RA, radial anterior; IR₁, intercalar 1; CuP, cubital posterior; FW, asa anterior; HW, asa posterior; Px, veias pós-nodais; S1–10, segmentos abdominais 1 a 10. As medidas foram fornecidas em milímetros e o comprimento do abdômen não inclui o cerco.

10 RESULTADOS

10.1 Redescrição

10.1.1 *Mecistogaster linearis* (Fabricius, 1777)

Hayez (1860: 22); Selys-Longchamps (1860: 16, 1886: 23); Ris (1918: 73); Sjöstedt (1918: 33); Kennedy (1919: 112); Munz (1919: 74); Fraser (1946: 462); Calvert (1948: 55); Lencioni (2017: 177).

Agrion linearis Fabricius, 1777 [Espécie-tipo]

Sin. *Libellula longissima* Linnaeus in Fée, 1832*

Sin. *Mecistogaster filigerus* Rambur, 1842

Sin. *Mecistogaster flavistigma* Rambur, 1842

Sin. *Mecistogaster linearis infumata* Fraser, 1946

Material estudado. Parátipo, ♂: “3781; Bogota, Lindig.; Paratypus” [Colômbia, Bogotá, Lindig leg., 3781 (provavelmente um número de registro dado pelo museu)]. Depositado no MFN (Figura 18A).

Diagnose da ninfa (Sahlén & Hedström, 2005). Corpo marrom escuro no dorso e marrom amarelado no ventre, sendo que os indivíduos vivos possuem o corpo com uma coloração azul acinzentado brilhante. Margem dos lobos occipitais da cabeça arredondados. Mandíbula com quatro dentes externos, sendo que o mais apical possui um pequeno dente adicional em sua base; região ventral com dente diminuto ao longo da borda da área arredondada da mandíbula; região lateral da mandíbula com poucas cerdas. Premento em forma de cunha afinando uniformemente em direção às bordas posteriores. Tarso com duas fileiras de cerdas ramificadas ventralmente. Abdômen com tergitos lisos, coberto por cerdas pequenas e finas; ausência de espinhos. Lamela caudal oval, peciolada na região proximal com uma fileira de cerdas diminutas e em formato de folha na região distal.

Diagnose do adulto. Margem costal da asa posterior sem dilatação onde o pseudostigma se encontra; pseudostigma marrom-escuro; pseudostigma ocupa 2 fileiras de células. Segmento II do pênis com ausência de dobra interna e com tufo de cerdas na lateral; segmento III do pênis em forma de flagelo. Margem posterior de S10 com acentuada depressão mediana em vista dorsal. Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal; horizontal e subcilíndrico em vista lateral, e com o mesmo comprimento de S10.

Redescrição do adulto

Coloração. *Cabeça* (Figura 18B): não foi possível redescrever a coloração do lábio, labro, anteclípeo, pós-clípeo, gena e antefronte. Dorso da cabeça preto com pequena mancha marrom-clara rente à margem de cada olho entre a antena e o ocelo mediano; antenas com escapo preto e pedicelo e flagelo amarronzados; região occipital da cabeça amarelada.

Tórax. Protórax (Figura 18B): pronoto preto; lobo anterior com manchas amarelas anteriormente; lobo médio com duas pequenas manchas amarelas lateralmente; propleura com mancha amarelada lateralmente; lobo posterior preto com um par de manchas amareladas lateralmente. Pterotórax (Figura 18B, D): carena médio-dorsal preta, mesepisterno preto; faixa antehumeral amarela ocupando metade do esclerito e faixa pós-humeral ocupando quase toda a extensão do esclerito, com origem em lados opostos. Mesinfraepisterno preto com mancha amarelada na região inferior; mesepímero preto; metepisterno e metepímero em grande parte amarelados com faixa preta ao longo da sutura metapleural. Ventre amarelado com faixa preta medianamente e na lateral seguindo da região posterior até a metade do ventre.

Pernas (Figura 18D). Fêmur com a região proximal da superfície interna amarela e externa preta; tíbia com a superfície interna preta e externa amarela; tarso preto.

Asas (Figura 18C). FW e HW transparentes com veias marrom-escuras, exceto na região apical entre as veias RA e IR₁ que possui células com manchas marrom-claras. Pseudostigma marrom-escuro em todas as asas, com 10-11 células na primeira fileira

da FW e 1-2 células na segunda fileira, e 6-7 células na HW. Venação: 36 Px na FW, 34 na HW. RP2 na FW originando anterior à Px 13, na HW na Px 11. Pecíolo na FW originando distal de CuP por uma distância de aproximadamente quatro vezes o tamanho de CuP e na HW por uma distância de cinco vezes o tamanho de CuP.

Abdômen (Figuras 18D, E). S1-7 preto, com faixa lateral amarela; S8-9 preto com um par de manchas amarelas lateralmente na região distal; S10 preto com manchas amarelas ocupando a metade distal do segmento. Cerco amarelo na metade proximal em vista dorsal e marrom-escuro na região distal; marrom-escuro em vista ventral.

Caracteres estruturais. *Tórax.* Lobo posterior do protórax arredondado lateralmente e reto na margem posterior (Fig. 18B).

Pernas. Dente suplementar da garra tarsal pouco desenvolvido.

Asas. Margem costal da HW sem dilatação onde o pseudostigma se encontra. (Fig.18C).

Pênis. Não foi possível redescrever, pois não estava exposto.

Abdômen. Margem posterior de S10 com acentuada depressão mediana em vista dorsal (Fig. 18E). Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal (Fig. 18E); horizontal e subcilíndrico em vista lateral; e com o mesmo comprimento de S10.

Medidas (mm). HW 53, abdômen (não tem a medida exata, podendo variar entre 100 e 125).

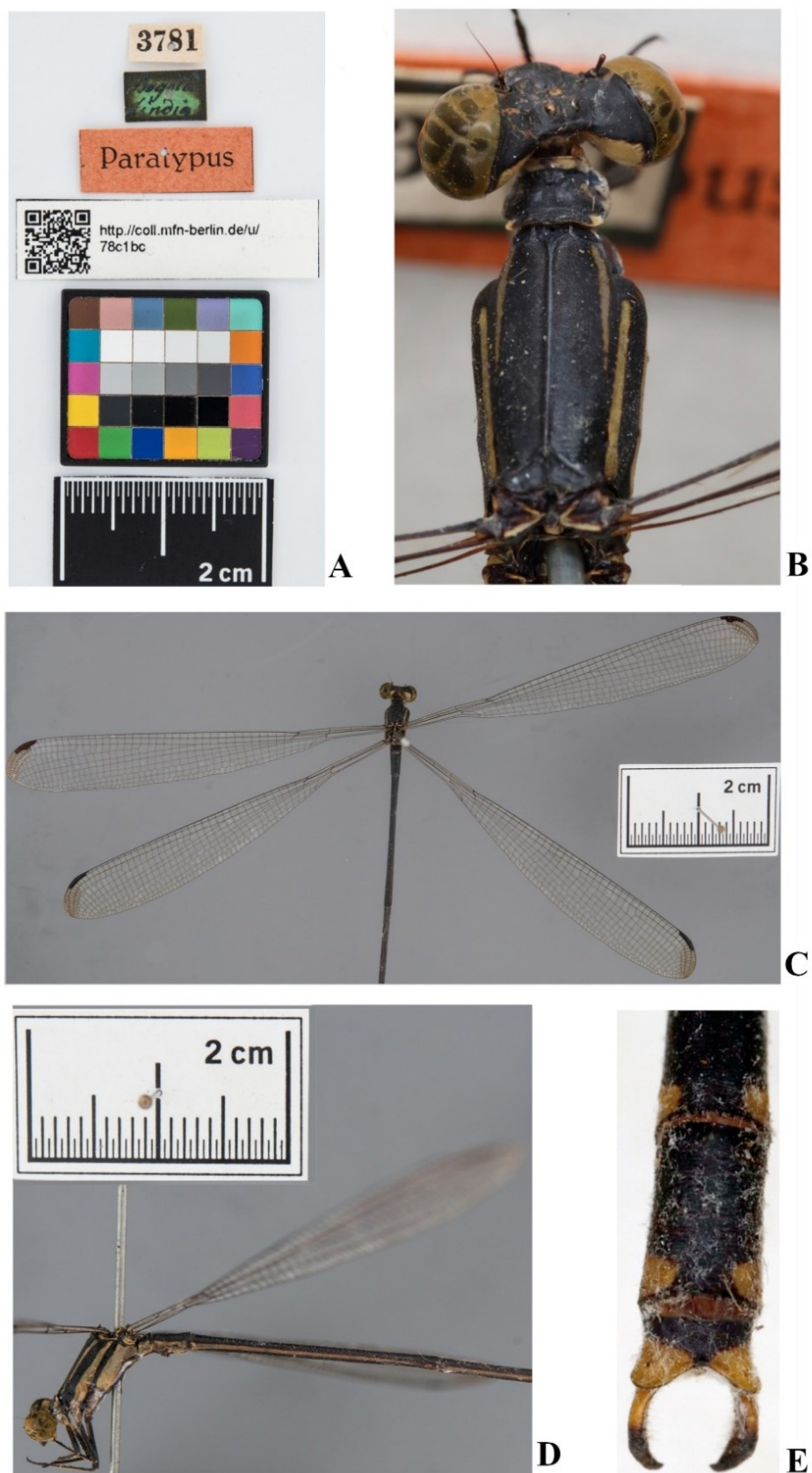


Figura 18. Parátipo macho de *Mecistogaster linearis*: A) Etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Cabeça e tórax em vista dorsal; C) Espécime em vista dorsal, com destaque para as asas; D) Tórax e segmentos abdominais 1-4 em vista lateral; E) Segmentos abdominais 8-10 e cercos em vista dorsal.

10.1.2 *Mecistogaster ornata* Rambur, 1842

Hayez (1860: 20); Ris (1918: 70); Sjöstedt (1918: 32); Kennedy (1919: 111; 1920: 84); Geijskes (1932: 237); Fraser (1946: 461); Lencioni (2005:156).

Sin. *Mecistogaster ornatus* Rambur, 1842

Sin. *Mecistogaster luctuosus* Selys, 1860

Sin. *Mecistogaster ornatus luctuosus* Hagen in Selys, 1860*

Sin. *Mecistogaster acutipennis* Selys, 1886

Material estudado. Síntipo, ♂: “P. Cabello; M. ornatus, coll. Hagen; luctuosus, male ad; penis drawn; Hagen” [Venezuela, Carabobo, Puerto Capello, 10.473056° - 68.0125°, MCZ-ENT 12122]. Depositado no MCZ.

Diagnose da ninfa (Ramírez, 1995). Corpo totalmente castanho escuro. Cabeça com cerdas espessas próximo à margem posterior dos lobos occipitais, occipúcio fortemente côncavo. Mandíbulas com quatro dentes, sendo o dente ventral com um dente diminuto na base; dentes da mandíbula esquerda com o mesmo tamanho. Premento com cerdas robustas nas margens laterais em vista ventral. Tarso com uma fileira de espinhos na margem ventral. Abdômen de coloração uniforme com um padrão rajado na margem distal de cada segmento abdominal; ausência de protuberâncias dorsais e de espinhos laterais; cerdas escamosas espalhadas por toda a superfície do abdômen. Lamela caudal delgada e peciolada, em forma de folha.

Diagnose do adulto. Margem costal da asa posterior sem dilatação onde o pseudostigma se encontra; pseudostigma marrom-claro, com uma camada esbranquiçada em todas as asas delimitado por uma linha marrom sinuosa na face dorsal e branco amarelado na face ventral; pseudostigma ocupa três fileiras de células. Segmento II do pênis com presença de dobra interna e com tufo de cerdas lateralmente à dobra interna; segmento III em forma de placa, afilando gradativamente distalmente, com o ápice arredondado em vista dorsal. Margem posterior de S10 com pequena depressão mediana em vista dorsal. Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal, horizontal e subcilíndrico em vista lateral, e maior do que o comprimento de S10.

Redescrição

Coloração. *Cabeça* (Figura 19A): Lábio amarelado e labro e anteclípeo amarelo escuro, pós-clípeo, gena e antefronte marrom-avermelhado; dorso da cabeça preto posterior ao ocelo mediano e marrom-avermelhado anterior a ele, se expandindo lateralmente margeando os olhos; antenas com escapo e pedicelo marrom; espécime sem os flagelos; região occipital da cabeça amarelada.

Tórax. Protórax (Figura 19A): pronoto preto; lobo anterior com manchas amarelas; lobo médio com manchas amarelas lateralmente e mais medialmente com mancha marrom-avermelhada; propleura amarela com pruinosidade; lobo posterior preto com um par de manchas amareladas lateralmente e mais medialmente com mancha marrom-avermelhada. Pterotórax (Figuras 19A, B): carena médio-dorsal preta, mesepisterno marrom-avermelhado; faixa antehumeral amarela ocupando aproximadamente a metade do esclerito e faixa pós-humeral amarela ocupando quase

toda a extensão do esclerito, com origem em lados opostos. Mesinfraepisterno marrom-avermelhado com mancha amarela na região inferior; mesepímero marrom-avermelhado; metepisterno em grande parte amarelo com mancha preta na sutura interpleural; metepímero e sutura metapleural amarelos. Ventre amarelado com faixa preta mediana.

Pernas. Fêmur com a superfície interna amarela e externa preta; tíbia com a superfície interna preta e externa amarela; tarso preto.

Asas (Figura 19E). FW e HW transparentes com veias marrom-escuras, exceto na região do pseudostigma onde as veias são alaranjadas. Pseudostigma marrom-claro, com uma camada esbranquiçada em todas as asas delimitado por uma linha marrom sinuosa na face dorsal e branco amarelado na face ventral. Pseudostigma na FW com 18 células na primeira fileira, 11-12 células na segunda fileira e 7-8 células na terceira fileira; HW com 15 células na primeira fileira, 10-11 células na segunda fileira e 6-7 células na terceira fileira. Venação: 37 Px na FW, 38 na HW. RP2 na FW originando anterior à Px 15, na HW na Px 13. Pecíolo na FW e HW originando distal de CuP por uma distância que corresponde à metade do tamanho de CuP.

Abdômen (Figuras 19F, G). S1-10 preto, com faixa marrom-clara lateralmente na região inferior, sendo que essa mancha marrom-clara se estende dorsalmente no S9 e S10. Cerco marrom-claro com ápice preto em vista dorsal.

Caracteres estruturais. *Tórax.* Lobo posterior do protórax arredondado lateralmente e reto na margem posterior (Fig. 19A).

Pernas. Dente suplementar da garra tarsal pouco desenvolvido.

Asas. Margem costal da HW sem dilatação onde o pseudostigma se encontra. (Fig. 19E).

Pênis. Segmento I do pênis com fileira de pelos nas laterais (Fig. 19C); segmento II com presença de dobra interna e com tufo de cerdas lateralmente à dobra interna (Fig. 19D); segmento III em forma de placa em vista dorsal, afinando distalmente, com o ápice arredondado (Figs. 19C, D).

Abdômen. Margem posterior de S10 com pequena depressão mediana em vista dorsal (Fig. 19F). Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal (Fig. 19F); horizontal e subcilíndrico em vista lateral; e maior do que o comprimento de S10 (Fig. 19G).

Medidas (mm). HW 51, abdômen 77.

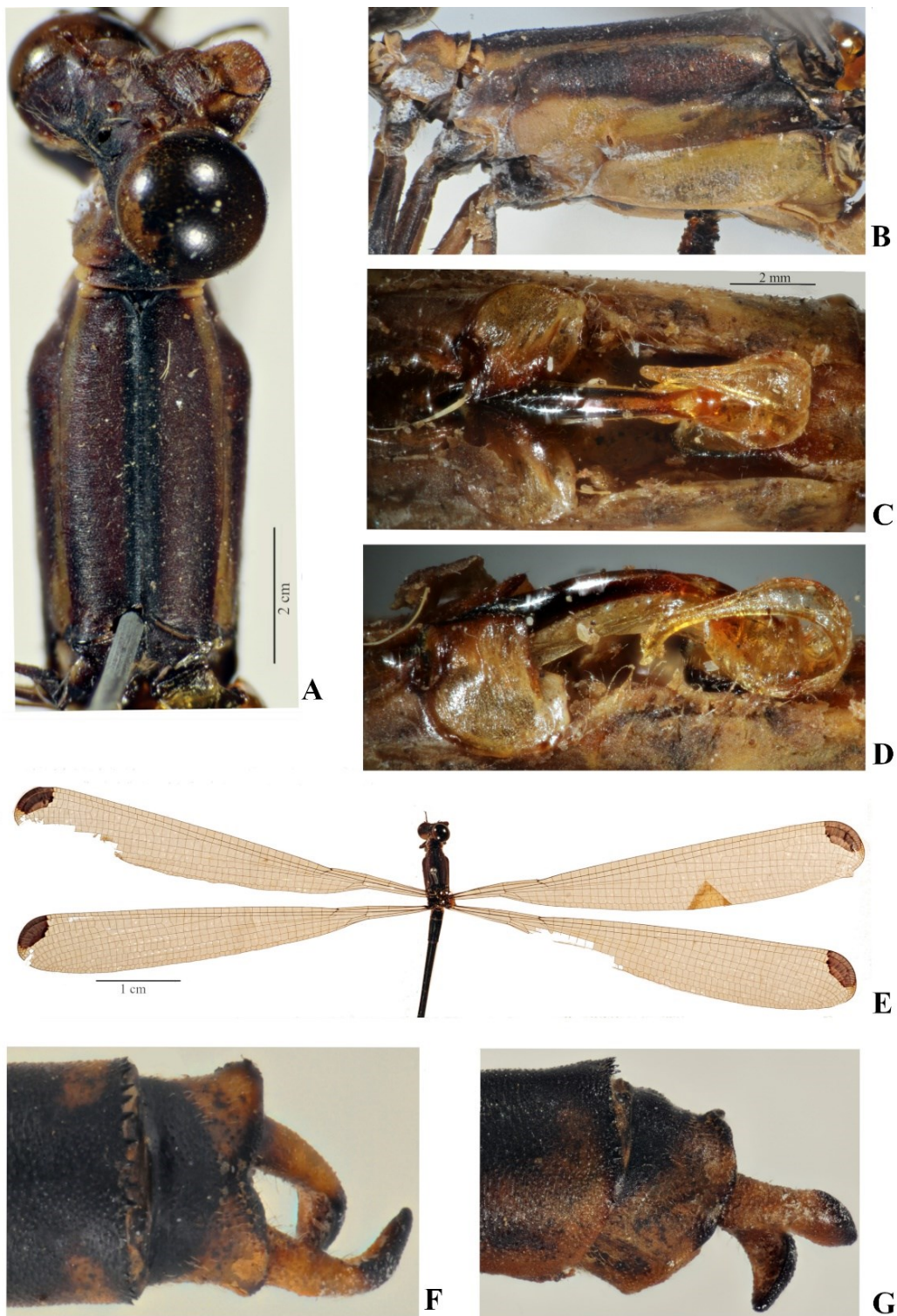


Figura 19. Síntipo macho de *Mecistogaster ornata*: A) Cabeça em vista latero-dorsal e tórax em vista dorsal; B) Tórax em vista lateral; C) Pênis em vista dorsal; D) Pênis em vista lateral; E) Espécime em vista dorsal, com destaque para as asas; F) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista dorsal; G) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista lateral.

10.1.3 *Platystigma buckleyi* (McLachlan, 1881)

Fraser (1946: 462); Lencioni (2005: 153); Machado & Soldati (2017: 498).

Mecistogaster buckleyi McLachlan, 1881

Sin. *P. garleppi* Föster, 1903

Sin. *P. amazonica* Sjösted, 1918

Material estudado. Lectótipo, ♂: “Lectotype; Type; R.Bobonaza., Ecuador., Buckley.; McLachlan Coll., B.M. 1938-674; Mecistogaster buckleyi McL, Lectotype, D.E.Kimmins det. 1968; Mecistogaster buckleyi, n1.; NHMUK 012500446; buckleyi, McL.” [Ecuador, Rio Bobonaza, data de coleta provavelmente anterior a 1877, Clarence Buckley leg.]. Depositado no NHM (Figura 20A).

Machado & Soldati (2017) fizeram a redescrição dessa espécie baseada em McLachlan (1881).

Ninfa não descrita.

Diagnose do adulto. Margem costal da asa posterior sem dilatação onde o pseudostigma se encontra; pseudostigma marrom na asa anterior e esbranquiçado na asa posterior; pseudostigma ocupa uma fileira de células; mancha apical branca na asa posterior. Segmento II do pênis com ausência de dobra interna; segmento II do pênis com elevação em vista lateral; segmento II do pênis com tufo de espinhos lateralmente próximo à base do segmento III em vista lateral; segmento III do pênis em forma de placa, afinando abruptamente distalmente, com o ápice arredondado em vista dorsal; segmento III do pênis com espinhos dispostos em dois tufos isolados. Margem posterior de S10 com duas pequenas elevações lateralmente em vista dorsal. Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal; horizontal e subcilíndrico em vista lateral, e maior do que o comprimento de S10.

Redescrição

Coloração. *Cabeça* (Figuras 20B, C): Lábio e labro amarelados; anteclípeo, pós-clípeo, gena e antefronte esverdeado; dorso da cabeça preto; antenas com escapo e pedicelo pretos, e esverdeados anteriormente; espécime está sem os flagelos; região occipital da cabeça amarelada.

Tórax. Protórax (Figura 20C): pronoto preto; lobo anterior com um par de manchas amarelas lateralmente conectadas a manchas esverdeadas na lateral do lobo médio; propleura preta com mancha amarela na região inferior; lobo posterior preto com um par de manchas amarelas lateralmente e na margem posterior com estreita faixa amarela. Pterotórax (Figuras 20B, C): carena médio-dorsal amarela, mesepisterno preto; faixa antehumeral amarela-esverdeada ocupando $\frac{1}{4}$ do esclerito e faixa pós-humeral esverdeada ocupando quase toda a extensão do esclerito, com origem em lados opostos. Mesinfraepisterno preto com mancha amarelada na região superior e inferior; mesepímero preto; metepisterno amarelado com estreita faixa preta ao longo da sutura metapleural, que não alcança a perna posterior; metepímero amarelado. Ventre amarelado com pequena mancha anteriormente e outra maior posteriormente.

Pernas. Fêmur com a superfície interna marrom-escura e externa amarela; tibia com a superfície interna preta e externa amarela; tarso preto.

Asas (Figura 20E). FW e HW transparentes com veias marrom-escuras, exceto no ápice da HW onde as veias são esbranquiçadas. Pseudostigma marrom na FW e esbranquiçado na HW. HW com mancha apical esbranquiçada no ápice da asa. Pseudostigma na FW com cinco células e na HW com dez. Venação: 38 Px na FW,

32 na HW. RP2 na FW originando na Px 10, na HW anterior à Px 9. Pecíolo na FW e HW originando distal de CuP por uma distância de duas vezes o tamanho de CuP.

Abdômen. S1-8 preto, com faixa amarela na lateral; S9-10 amarelado. Cerco preto (Fig. 20G).

Caracteres estruturais. *Tórax.* Lobo posterior do protórax arredondado lateralmente e reto na margem posterior (Fig. 20C).

Pernas. Dente suplementar da garra tarsal pouco desenvolvido.

Asas. Margem costal da HW com sutil dilatação onde o pseudostigma se encontra. (Fig. 3E).

Pênis. Não foi possível redescrever, pois não estava exposto (Fig. 20F).

Abdômen. Margem posterior de S10 com duas pequenas elevações lateralmente em vista dorsal (Fig. 20G). Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal; horizontal e subcilíndrico em vista lateral; cerco maior do que o comprimento de S10.

Medidas (mm). HW 43.8, abdômen 58.

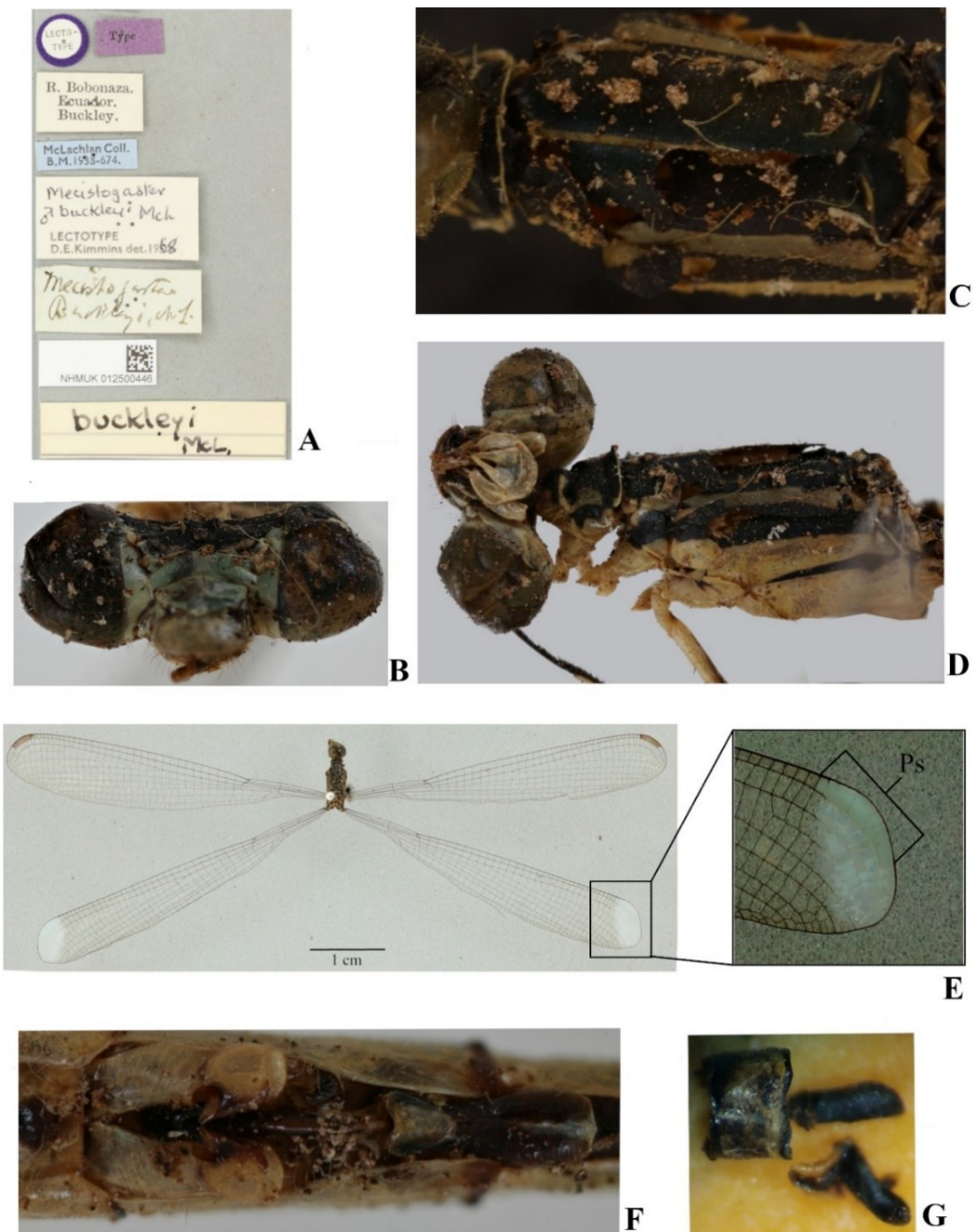


Figura 20. Lectótipo macho de *Platystigma buckleyi*: A) Etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Tórax em vista dorsal; C) Cabeça em vista ventral e tórax em vista lateral; D) Cabeça em vista frontal; E) Espécime em vista dorsal, com destaque para o ápice da asa posterior (imagem com saturação); F) Fossa genital no segundo segmento do abdômen; G) Segmento abdominal 10 e cercos em vista dorsal (os cercos quebraram após a realização da redescrição). Ps= pseudostigma.

10.1.4 *Platystigma jocaste* (Hagen, 1869)

Hayez (1860: 20-21); Ris (1918: 72-73); Kennedy (1919: 111; 1920: 84); (Navás, 1920: 92); Fraser (1946: 462); Soldati & Machado (2017: 494-497).

Mecistogaster jocaste Hagen, 1869 [Espécie-tipo]

Sin. *Mecistogaster sincerus* McLachlan, 1877

Sin. *Mecistogaster vincentius* Ris, 1918

Material estudado. Holótipo, ♂: "Sta. Fe de Bogota, Lindig 1862; Hagen.; Penis drawn; Type 12121" [Colômbia, Bogotá (Santa Fé de Bogotá), 1862, Lindig leg., 4.612143° - 74.070817°, MCZ-ENT 12121]. Depositado no MCZ (Figura 21A).

Ninfa não descrita.

Diagnose do adulto. Margem costal da asa posterior sem dilatação onde o pseudostigma se encontra; pseudostigma marrom na asa anterior e dificilmente visível na asa posterior; pseudostigma ocupa uma fileira de células; mancha apical branca e mancha pré-apical marrom escura na asa posterior. Segmento II do pênis com ausência de dobra interna; segmento II do pênis com elevação em vista lateral; segmento II do pênis com ausência de espinhos; segmento III do pênis em forma de placa e retangular em vista dorsal; segmento III do pênis com fileira de espinhos lateralmente na região interna do segmento. Margem posterior de S10 com depressão mediana sutil em vista dorsal. Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal; horizontal e subcilíndrico em vista lateral, e maior do que o comprimento de S10.

Redescrição

Coloração. *Cabeça* (Figura 21C): Lábio amarelado; labro preto; anteclípeo marrom, pós-clípeo, gena e antefronte pretos; dorso da cabeça preto; antenas com escapo preto, pedicelo e flagelo marrons; região occipital da cabeça amarelada.

Tórax. Protórax (Figuras 21D, B): pronoto preto com mancha verde metálica; lobo anterior com manchas amarelas; lobo médio com dois círculos amarelos anteriormente; propleura preta com mancha amarela; lobo posterior preto, na margem posterior com estreita faixa amarela e manchas amareladas lateralmente. Pterotórax (Figuras 21D, B): carena médio-dorsal preta, mesepisterno preto com mancha verde metálica; faixa antehumeral marrom-clara ocupando 1/5 do esclerito e faixa pós-humeral marrom-clara ocupando quase toda a extensão do esclerito, com origem em lados opostos. Mesinfraepisterno preto com mancha amarela na região inferior; mesepímero preto com mancha verde metálica; metepisterno amarelo com estreita faixa preta ao longo da sutura metapleural, que não alcança a perna posterior; metepímero amarelo. Ventre amarelado com faixa preta mediana.

Pernas. Fêmur com superfície interna amarela e externa preta; tíbia com a superfície interna preta e externa amarela; tarso marrom.

Asas (Figura 21A). FW e HW transparentes com veias marrom-escuras, exceto no ápice da HW que possui mancha apical branca e veias esbranquiçadas. Faixa marrom escura larga proximal à mancha apical branca na HW. Pseudostigma marrom na FW e dificilmente visível na HW. Pseudostigma na FW com cinco células e na HW com dez. Venação: 36 Px na FW, 28 na HW até o início da mancha branca do ápice. RP2 na FW originando anterior à Px 11, na HW na Px 9. Pecíolo na FW e HW originando distal de CuP pela mesma distância do tamanho de CuP.

Abdômen (Figuras 21E, F). S1-6 marrom, metade inferior da lateral amarela; S7-10 preto. Cerco marrom.

Caracteres estruturais. *Tórax.* Lobo posterior do protórax arredondado lateralmente e reto na margem posterior (Fig. 21D).

Pernas. Dente suplementar da garra tarsal pouco desenvolvido.

Asas. Margem costal da HW sem dilatação onde o pseudostigma se encontra. (Fig. 21A).

Pênis (Figura 21G). Segmento I do pênis com fileira de pelos lateralmente; segmento II sem dobra interna. Segmento III em forma de placa em vista dorsal, retangular e com fileira de espinhos lateralmente na região interna do segmento.

Abdômen. Margem posterior de S10 com depressão mediana sutil em vista dorsal (Fig. 21E). Cerco convergindo distalmente e direcionado medialmente em vista dorsal (Fig. 21E); horizontal e subcilíndrico em vista lateral (Fig. 21F); cerco maior do que o comprimento de S10.

Medidas (mm). HW 38.5, abdômen 62.5.



Figura 21. Holótipo macho de *Platystigma jocaste*: A) Espécime em vista dorsal, com destaque para o ápice da asa posterior (imagem com saturação) e etiquetas contidas no espécime dispostas na ordem superior para inferior; B) Cabeça em vista dorsal e protórax em vista lateral; C) Tórax em vista dorsal; D) Tórax em vista lateral; E) Fossa genital no segundo segmento do abdômen com o pênis exposto; F) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista dorsal; G) Segmentos abdominais 9-10 e cercos em vista lateral. Ps= pseudostigma.

10.2 Decisões e notas taxonômicas

Após um estudo detalhado da morfologia de *Platystigma humaita*, *P. quadratum* e *P. buckleyi*, sugere-se a sinonimia das duas primeiras espécies com a última espécie, já que verificou-se que as poucas diferenças morfológicas entre elas podem se tratar de variações intraespecíficas. A angulação da dilatação costal na asa posterior, por ser muito sutil, pode gerar dúvida em relação à sua presença ou ausência. Portanto, essa característica aplicada a *P. buckleyi*, *P. humaita* e *P. quadratum* pode apresentar pequenas variações que não são bem definidas, diferentemente da dilatação costal sutil na asa posterior de *P. astictum* e *P. martinezi*. De acordo com Machado & Soldati (2017), *P. humaita* se diferenciaria de *P. quadratum* por apresentar mancha apical na asa anterior e posterior, enquanto que *P. quadratum* tem mancha apical apenas na asa posterior. Porém, houve um erro ao afirmar isso, pois *P. humaita* tem mancha apical apenas na asa posterior, assim como *P. quadratum*. Para mais detalhes das características dessas espécies ver Machado & Soldati (2017).

Uma característica observada ao analisar três indivíduos de *P. buckleyi* foi que o pseudostigma na asa anterior de um deles era azulado, no outro espécime era azulado na maioria das células e em uma célula era amarronzado, e no terceiro exemplar era completamente amarronzado. Possivelmente os indivíduos com o pseudostigma da asa anterior azulado são adultos não maduros, já que além dessa característica de coloração da asa, eles também possuíam o exoesqueleto deformado. Isso sugere que quando foram sacrificados, o tegumento ainda não tinha finalizado seu processo de esclerotização e a pigmentação da asa não estava concluída. Além disso, a percepção da coloração da mancha apical na asa posterior de *P. buckleyi* pode variar, dependendo de como essa estrutura é analisada. Quando a asa está sob luz direta, a mancha apical se apresenta azulada, e sem a presença de luz direta, a mancha apical se apresenta esbranquiçada.

Ainda, sugere-se a sinonimia de *M. nordestina*, *M. kesselringi* e *M. mielkei* com *M. amalia*, pois após a análise criteriosa dos caracteres diagnósticos, eles foram interpretados como variações, como por exemplo, a aleta no hâmulos anterior do macho ser exposta fora da cavidade genital ou ser posicionada dentro da cavidade genital. Essas duas características (aleta exposta fora da cavidade genital ou posicionada dentro da cavidade genital) são encontradas em espécimes de *M. linearis* e de *M. lucretia*, sendo um forte indicativo de um caráter variável. Além disso, as características taxonômicas do pênis que diferenciam uma espécie da outra são sutis, assim como a extensão da mancha marrom-avermelhada no mesepímero (pterotórax), que é variável. Para mais detalhes das características dessas espécies ver Soldati & Machado (2019).

10.3 Chave de identificação genérica dos machos

1. Comprimento do abdômen entre 70 e 140 mm e asas entre 47 e 70 mm; presença de dobra interna no segmento II do pênis (exceto *M. linearis* e *M. modesta*); segmento III do pênis em forma de flagelo com ausência de espinhos *Mecistogaster* (item 10.4)

1'. Comprimento do abdômen entre 48 e 65 mm e asas entre 32 e 48 mm; ausência de dobra interna no segmento II do pênis; segmento III do pênis em forma de placa com presença de espinhos (exceto *P. astictum*) *Platystigma* (item 10.5)

10.4 Chave de identificação dos machos de *Mecistogaster*

1. Segmento III do pênis em forma de placa (Fig. 22A); pseudostigma ocupa 3 fileiras de células na asa anterior (Fig. 22E) *M. ornata*

1'. Segmento III do pênis em forma de flagelo (Fig. 22B), pseudostigma ocupa 2 fileiras de células na asa anterior (Fig. 22C) 2

2. Veia MA com angulação na asa anterior (Fig. 22C); região apical do cerco com esporão (Fig. 22I) 3

2' Veia MA sem angulação na asa anterior (Fig. 22D); região apical do cerco sem esporão (Fig. 22J) *M. modesta*

3. Pseudostigma com dilatação costal na asa posterior (Figs. 22F, H); região distal do cerco direcionado ventralmente em vista lateral (Fig. 22K) 4

3'. Pseudostigma sem dilatação costal na asa posterior (Fig. 22G); cerco reto em vista lateral (Fig. 22L) *M. linearis*

4. Dilatação costal moderada (Fig. 22F); mesepímero preto (Fig. 22M) *M. lucretia*

4'. Dilatação costal acentuada (Fig. 22H); mesepímero marrom avermelhado (Fig. 22N) *M. amalia*

10.5 Chave de identificação atualizada dos machos de *Platystigma*

(macho de *P. pronoti* desconhecido)

1. Asa posterior com mancha pré-apical marrom escura (Fig. 23A) *P. jocaste*

1'. Asa posterior sem mancha pré-apical (Figs. 23B, C, D) 2

2. Asa posterior com mancha apical (Fig. 23C); segmento II do pênis com elevação dorsal em vista lateral (Fig. 23E); segmento III do pênis com espinhos (Figs. 23E, G) 3

2'. Asa posterior sem mancha apical (Fig. 23B); segmento II do pênis sem elevação dorsal em vista lateral (Fig. 23F); segmento III do pênis sem espinhos (Fig. 23F) *P. astictum*

3. Asa posterior com dilatação costal sutil acima do pseudostigma (Fig. 23C) *P. martinezi*

3'. Asa posterior sem dilatação costal acima do pseudostigma (Fig. 23D) 4

4. Espécie grande (HW 40-48, abdômen 52-65); apenas asa posterior com mancha apical; ápice do segmento III do pênis afilando de forma abrupta (Fig. 23G);

segmento III do pênis com espinhos dispostos em dois tufos isolados (Fig. 23I)

..... *P. buckleyi*

4' Espécie pequena (HW 32, abdômen 48); asa anterior e posterior com mancha apical; ápice do segmento III do pênis afinando de forma gradativa (Fig. 23H);

segmento III do pênis com espinhos dispostos continuamente (Fig. 23E)

..... *P. minimum*

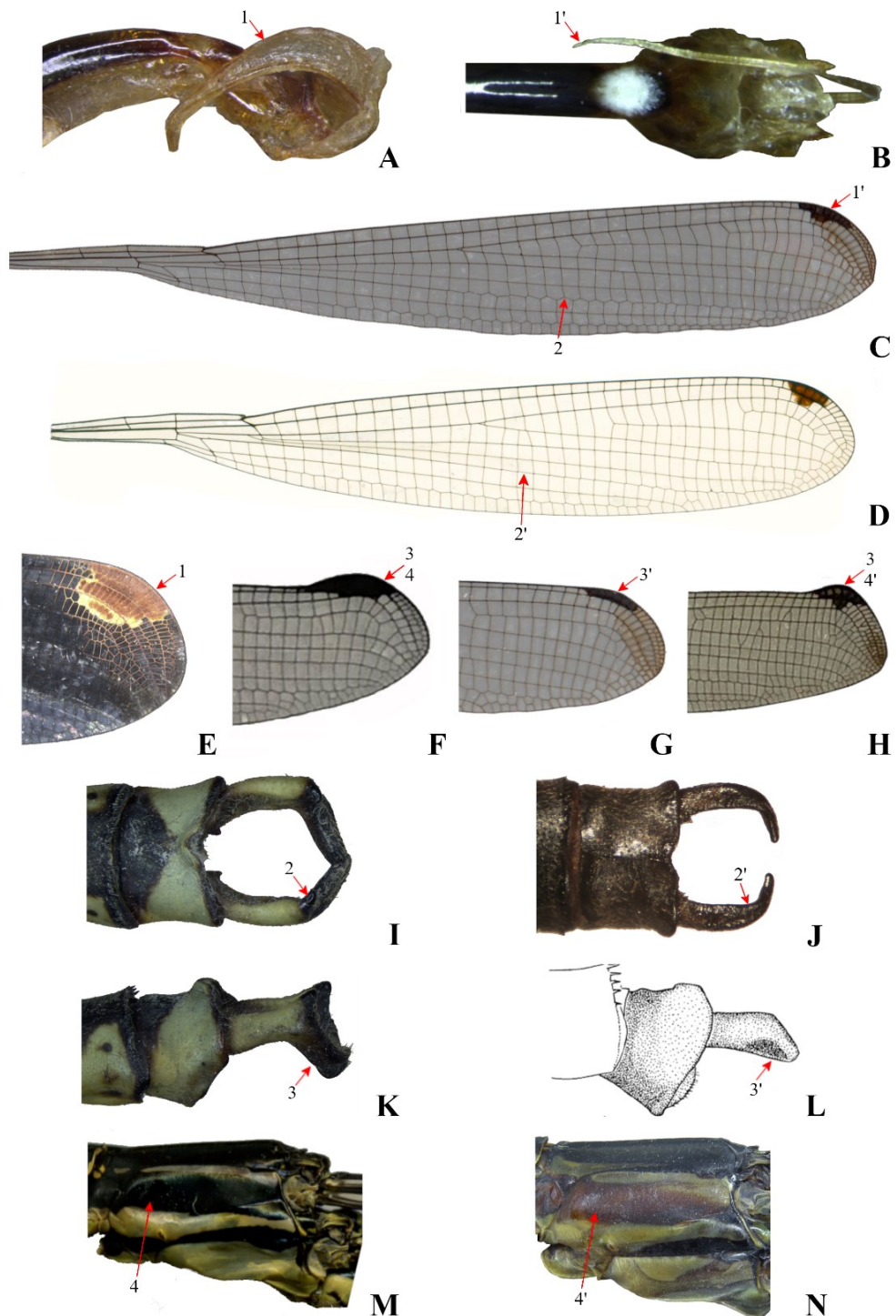


Figura 22. Representação das características contidas na chave de identificação dos machos de *Mecistogaster*, com as setas apontando os passos. A) Pênis em vista dorsal, *M. ornata*; B) Pênis em

vista dorsal, *M. amalia*; C) Asa anterior, *M. linearis*, parátipo; D) Asa anterior, *M. modesta* (F. Lencioni, Com. Pess. 2021); E) Região apical da asa anterior, *M. ornata*; F) Região apical da asa posterior, *M. lucretia*; G) Região apical da asa posterior, *M. linearis*, parátipo; H) Região apical da asa posterior, *M. amalia*; I) Cerco em vista dorsal, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019); J) Cerco em vista dorsal, *M. modesta* (F. Lencioni, Com. Pess. 2021); K) Cerco em vista lateral, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019); L) Cerco em vista lateral, *M. linearis* (Lencioni, 2017); M) Pterotórax em vista lateral, *M. lucretia* (modificado de NMNH-00388980); N) Pterotórax em vista lateral, *M. amalia* (Soldati & Machado, 2019). NMNH-388980 = National Museum of Natural History, Smithsonian – código do espécime (https://www.si.edu/object/nmnhentomology_9304625).

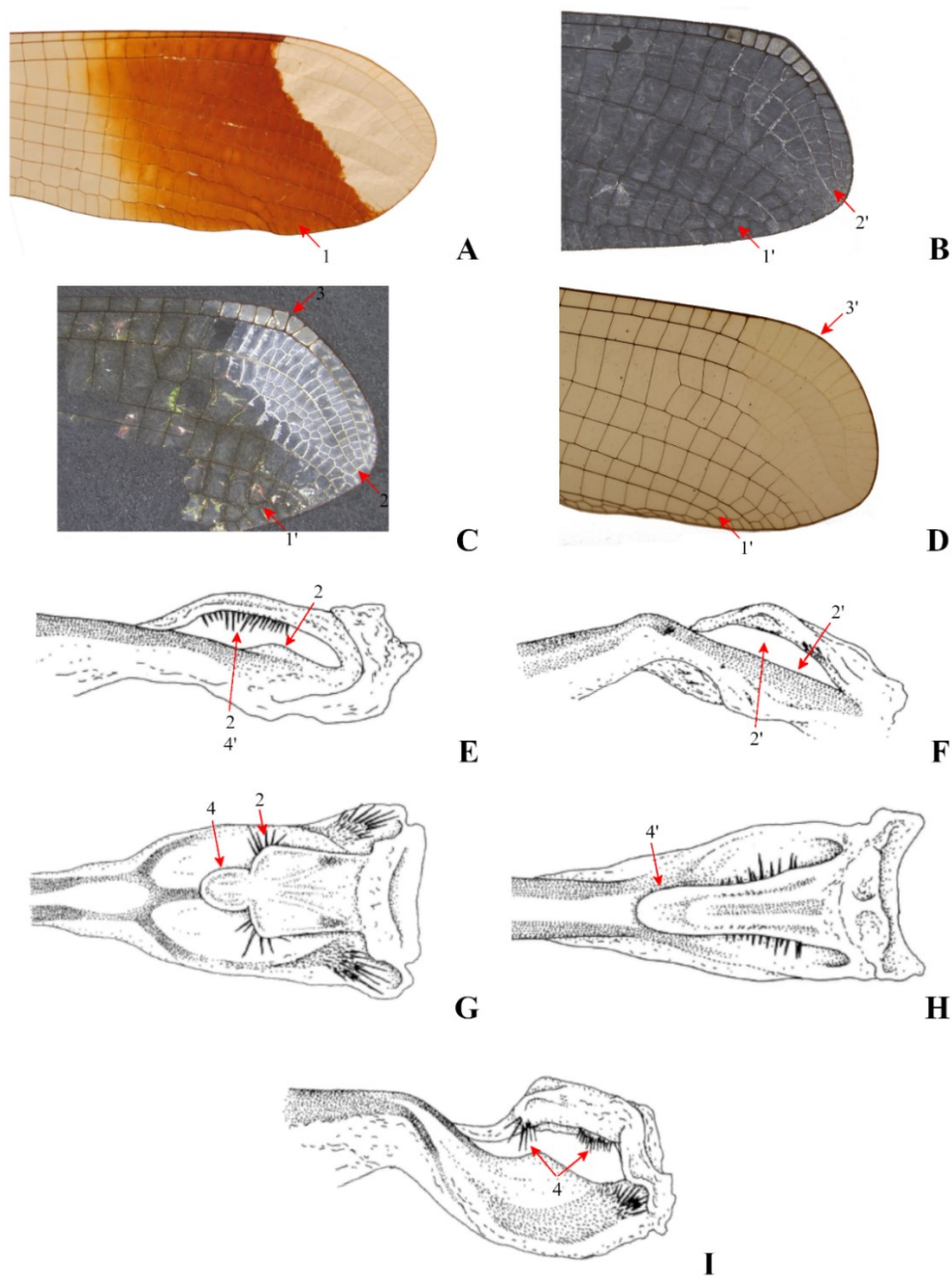


Figura 23. Representação das características contidas na chave de identificação atualizada dos machos de *Platystigma*. A) Asa posterior, *P. jocaste*; B) Asa posterior, *P. astictum*; C) Asa posterior, *P. martinezi*; D) Asa posterior, *P. buckleyi*, lectótipo; E) Pênis em vista lateral, *P. minimum* (Machado & Soldati, 2017); F) Pênis em vista lateral, *P. astictum* (Machado & Soldati, 2017); G) Pênis em vista dorsal, *P. buckleyi* (Machado & Soldati, 2017); H) Pênis em vista dorsal, *P. minimum* (Machado & Soldati, 2017); I) Pênis em vista lateral, *P. buckleyi* (Machado & Soldati, 2017).

11 DISCUSSÃO

Na descrição de *M. ornata*, Rambur (1842) comenta que o pseudostigma não é distinguível em relação à mancha presente no ápice. Isso indica que ele considera a presença de uma mancha apical, a qual compreende o pseudostigma. No presente estudo foi considerada que a mancha presente no ápice das quatro asas é o pseudostigma e que não há mancha apical. Essa é uma estrutura a ser estudada com mais detalhes, já que essa definição pode ser subjetiva.

Na descrição original de *Platystigma buckleyi* e *P. jocaste*, McLachlan (1881) e Hagen (1869), respectivamente, levantaram que a asa posterior não possuía pseudostigma, provavelmente pois o pseudostigma na asa posterior é esbranquiçado e de difícil visualização, já que ele está junto à mancha apical que também é esbranquiçada. Porém, nas imagens fornecidas no presente estudo a saturação da imagem facilitou a visualização do pseudostigma na asa posterior dos tipos.

Apesar de Soldati & Machado (2019) terem apresentado a diagnose de *Mecistogaster linearis*, esta foi sucinta e não ilustrada, já que se baseou na literatura. Sendo assim, no presente estudo foi feita sua redescrição completa, com ilustrações. Além disso, Kennedy (1919) ilustrou o pênis da espécie-tipo do gênero *Platystigma* (*P. jocaste*), mas pela primeira vez o pênis do holótipo foi fotografado e sua redescrição completa foi fornecida.

A chave de identificação foi atualizada e seguiu as decisões taxonômicas tomadas no item 10.2 **Decisões e notas taxonômicas**. Essa chave taxonômica é a primeira que inclui todas as espécies de *Mecistogaster*, sendo importante para a identificação correta das espécies, especialmente por possuir imagens referentes às principais características.

12 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora este trabalho represente um avanço na taxonomia do grupo, descrevendo características importantes e ausentes nas descrições originais, são necessárias a elaboração das redescrições das fêmeas de *Mecistogaster linearis* e *M. ornata*, assim como descrição do pênis de *M. linearis* e de *Platystigma buckleyi* com base nos tipos.

Novos estudos colaborarão para a determinação da identidade de cada uma das espécies. Adicionalmente, esses estudos também poderão fornecer informações sobre um possível complexo de espécies em *Mecistogaster linearis* (Machado, Com. Pess. 2017).

REFERÊNCIAS

- Aberer, A.J., Krompass, D. & Stamatakis, A. 2013. Pruning Rogue Taxa Improves Phylogenetic Accuracy: An Efficient Algorithm and Webservice. *Systematic Biology*, 62 (1), 162–166.
- Battin, T.J. 1993. Revision of the *puella* group of the genus *Coenagrion* Kirby, 1890 (Odonata, Zygoptera), with emphasis on morphologies contributing to reproductive isolation. *Hydrobiologia*, 262, 13–29.
- Bechly, G., 1995. Morphologische Untersuchungen am Flügelgeäder der rezenten Libellen und deren Stammgruppenvertreter (Insecta; Pterygota; Odonata) unter besonderer Berücksichtigung der Phylogenetischen Systematik und des Grundplanes der *Odonata [Morphological analysis of the wing venation of extant dragonflies and their stemgroup representatives (Insecta; Pterygota; Odonata) with special reference to phylogenetic systematics and the groundplan of crown group Odonata]. *Petalura*, special-volume 1, 341 pp.
- Bechly, G. 1996. Morphologische Untersuchungen am Flügelgeäder der rezenten Libellen und deren Stammgruppenvertreter (Insecta; Pterygota; Odonata) unter besonderer Berücksichtigung der Phylogenetischen Systematik und des Grundplanes der Odonata, *Petalura*, special volume (2), 1–402.
- Bergmann, T., Rach, J., Damm, S., Desalle, R., Schierwater, B. & Hadrys, H. 2013. The potential of distance-based thresholds and character-based DNA barcoding for defining problematic taxonomic entities by CO1 and ND1. *Molecular Ecology Resources*, 13 (6), 1069 – 1081
- Brasil, L.S. & Vilela, D.S. 2019. Peculiaridades regionais na percepção de brasileiros sobre libélulas: nomenclatura popular e conservação. *Hetaerina*, 1 (1), 15 – 20.
- Bremer, K. 1994. Branch Support and Tree Stability. *Cladistics*, 10, 295–304.
- Bybee, S. M., Ogden, T. H., Branham, M. A. & Whiting, M. F. 2008. Molecules, morphology and fossils: a comprehensive approach to odonate phylogeny and the evolution of the odonate wing. *Cladistics*, 24, 477–514.
- Bybee, S. M., Vincent J. Kalkman, V. J., Erickson, R. J., Frandsen, P. B., Breinholt, J. W., Suvorov, A., Dijkstra, K. B, Cordero-Rivera A., Skevington, J. H., Abbott, J. C., Herrera, M. S., Lemmon, A. R., Lemmon E. M. & Ware, J. W. 2021. Phylogeny and classification of Odonata using targeted genomics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 160, 107115.
- Calvert, P.P. 1911. Studies on Costa Rica Odonata. III. Structure and transformation of the larva of *Mecistogaster modestus*. *Entomological News*, 22, 449–460.
- Calvert, P.P. 1948. Odonata (dragonflies) of Kartabo, Bartica District, British Guiana. *Zoologica. Scientific Contributions of the New York Zoological Society*, 33 (2), 47–87.
- Castro-Huertas, V., Forero, D. & Grazia, J. 2020. Evolution of wing polymorphism and genital asymmetry in the thread-legged bugs of the tribe Metapterini Stål

(Hemiptera, Reduviidae, Emesinae) based on morphological characters. *Systematic Entomology*, 1–16.

Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez, J.M. & Gabaldón, T. 2009. TrimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 25 (15), 1972–1973.

Carle, F. L., Kjer, K. M. & May, M. L. 2008. Evolution of Odonata, with special Reference to Coenagrionoidea (Zygoptera). *Arthropod Systematics & Phylogeny*, 66 (1), 37–44.

Costa, J. M., Santos, T. C. & Oldrini, B. B. 2012. Odonata, p. 246–256. *In*: Rafael, J. A. et.al. *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Holos Editora, Ribeirão Preto, 810 pp.

Costa, W.S., Barcellos, A. & Brailovsky, H. 2020. Cladistic analysis of Spartocerini Amyot & Serville 1843 (Hemiptera, Coreidae, Coreinae). *Insect Systematics & Evolution*, 1–37.

Corbet, P.S. 1980. Biology of Odonata. *Annual Review of Entomology*, 25, 189–217.

Corbet, P.S. 1962. *A biology of dragonflies*. Witherby, London, 1–247.

Corbet, P.S. 1983. Odonata in Phytotelmata. *In*: Frank, J.K. & Lonnibos, L.P. (Eds): *Phytotelmata: terrestrial plants as host for aquatic insect communities*. Plexus, Medford, New Jersey, 29–54.

Corbet, P.S. 1999. *Dragonflies: behavior and ecology of Odonata*. Ithaca: Cornell University Press, 829 pp.

De Marmels, J. 1984. The genus *Nehalennia* Selys, its species and their phylogenetic relationships (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonalologica*, 13 (4), 501–527.

De Marmels, J. & Garrisson, R.W. 2005. Review of the genus *Leptagrion* in Venezuela with new synonymies and descriptions of a new genus, *Bromeliagrion*, and a new species, *B. rehni* (Zygoptera: Coenagrionidae). *The Canadian Entomologist*, 137, 257–273.

Dijkstra, K-D.B., Bechly, G., Bybee, S.M., Dow, R.A., Dumont, H.J., Fleck, G., Garrison, R.W., Hämäläinen, M., Kalkman, V.J., Karube, H., May, M.L., Orr, A.G., Paulson, D.R., Rehn, A.C., Theischinger, G., Trueman, J.W.H., van Tol, J., Ellenrieder, N., Ware, J. 2013. The classification and diversity of dragonflies and damselflies (Odonata). *Zootaxa*, 3703 (1), 36–45

Dijkstra, K.B., Kalkman, V.J., Dow, R.A., Stokvis, F.R. & Tol, J.V. 2014. Redefining the damselfly families: a comprehensive molecular phylogeny of Zygoptera (Odonata). *Systematic Entomology*, 39, 68–96.

Dijkstra, K.B (editor). 2016. *African Dragonflies and Damselflies Online*. Disponível em: addo.adu.org.za.

- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Phillips, M.J. & Rambaut, A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, 4 (5), e88, 699–710.
- Dumont, H.J., Vierstraete, A. & Vanfleteren, J.R. 2010. A molecular phylogeny of the Odonata (Insecta). *Systematic Entomology*, 35, 6–18.
- Farris, J.S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. 1–36.
- Feindt, W. 2019. Conservation genomics: Speciation of the Neotropical damselfly species *Megaloprepus caerulatus* – as a model for insect speciation in tropical rainforests. Doktorin der Naturwissenschaften, Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 270 pp.
- Feindt, W., Fincke, O. & Hadrys, H. 2014. Still a one species genus? Strong genetic diversification in the world's largest living odonate, the Neotropical damselfly *Megaloprepus caerulatus*. *Conservation Genetics*, 15, 469–481.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 39 (4), 783–791.
- Ferreira, S., Boudot, J., El Haissoufi, M., Alves, P.C., Thompson, D.J., Brito, J.C. & Watts, P.C. 2016. Genetic distinctiveness of the damselfly *Coenagrion puella* in North Africa: an overlooked and endangered taxon. *Conservation Genetics*, 17, 985–991.
- Fincke, O.M. 1984. Giant damselflies in a tropical forest: reproductive biology of *Megaloprepus caerulatus* with notes on *Mecistogaster* (Zygoptera: Pseudostigmatidae). *Advances in Odonatology*, 2, 13–27.
- Fincke, O.M. 1992. Interspecific Competition for Tree Holes: Consequences for Mating Systems and Coexistence in Neotropical Damselflies. *The American Naturalist*, 139 (1), 80–101.
- Fincke, O.M. & Hedström, I. 2008. Differences in forest use and colonization by Neotropical tree-hole damselflies (Odonata: Pseudostigmatidae): Implications for forest conservation. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 43 (1), 35–45.
- Fincke, O.M., Xu, M., Khazan, E.S., Wilson, M. & Ware, J.L. 2018. Tests of hypotheses for morphological and genetic divergence in *Megaloprepus* damselflies across Neotropical forests. *Biological Journal of the Linnean Society*, 125, 844–861.
- Fraser, F.C. 1946. Notes on Amazonian Odonata in the Leeds Museum, *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 97 (18), 443–472.
- Fraser, F.C. 1957. A reclassification of the order Odonata. Royal Society of New South Wales, Sydney, 1 pl., 134 pp.
- Futahashi, R. 2011. A revisional study of Japanese dragonflies based on DNA analysis. *Tombo*, 53, 67 – 74.
- Garrison, R.W. 1986. *Diceratobasis melanogaster* spec. nov., a new damselfly from the Dominican Republic (Zygoptera: Coenagrionidae), with taxonomic and distributional notes on the Odonata of Hispaniola and Puerto Rico. *Odonatologica*, 15 (1), 61–76.

- Garrison, R.W., von Ellenrieder, N. & Louton, J.A. 2010. *Damselfly Genera of the New World*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 490 pp.
- Geijskes, D.C. 1932. The Dragonfly-fauna of Trinidad in the British West Indies (Odonata). *Zoologische Mededelingen*, 15 (5), 96–128.
- Gelman, A. & Rubin, D.B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Sciences*, 7, 457–472.
- Gene Codes. 2002. Sequencher version 4.1.4, DNA sequence analysis software. Ann Arbor, MI USA. Disponível em: <http://www.genecodes.com>.
- Geospiza. 2006. FinchTV version 1.4.0. Disponível em: <http://geospiza.com/finchtv>.
- Goloboff, P.A. 1993. Estimating character weights during tree search. *Cladistics*, 9, 83–91.
- Goloboff, P.A. & Farris, J.S. 2001. Methods for Quick Consensus Estimation. *Cladistics* 17, 26–34.
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. & Nixon, K.C. 2003. Tree Analyses Using New Technology. Program and Documentation. Disponível em: <http://www.lillo.org.ar/phylogeny/tnt/>.
- Goloboff, P.A. 2008. Calculating SPR distances between trees. *Cladistics* 24, 591–597.
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. & Nixon, K.C. 2008a. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774–786.
- Goloboff, P.A., Carpenter, J.M., Arias, J.S. & Esquivel, D.R.M. 2008b. Weighting against homoplasy improves phylogenetic analysis of morphological data sets. *Cladistics*, 24, 758–773.
- Goloboff, P. & Catalano, S. 2016. TNT version 1.5, including a full implementation of phylogenetic morphometrics. *Cladistics*, 32, 221–238.
- Groeneveld, L. F., Clausnitzer, V., Hadrys, H. 2007. Convergent evolution of gigantism in damselflies of Africa and South America? Evidence from nuclear and mitochondrial sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 33–346.
- Hagen, H.A. 1869. Zur Odonaten-Fauna von Neu-Granada nach Lindig's Sammlungen. *Stettin Entomologische Zeitung*, 30, 256–263.
- Hayez, M. 1860. Académie Royale des Sciences des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique. n.d. Bulletin de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique. Vingte-Neuvième Année, Serie 2, Tome X, N.6, Classe des Sciences.
- Hawkins, J.A., Hughes, C.E. & Scotland, R.W. 1997. Primary Homology Assessment, Characters and Character States. *Cladistics*, 13, 275–283.
- Heckman, C.W. 2008. *Encyclopedia of South American Aquatic Insects: Odonata - Zygoptera*. Springer Netherlands, 693 pp.

- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. Translated by D.D.Davis & R.Zangerl. University of Illinois Press, Urbana and Chicago.
- Hennig, W. 1981. *Insect Phylogeny*. John Wiley & Sons, Bath, UK., 514 pp.
- Hoang, D.T., O. Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B.Q. & Vinh, L.S. 2018. UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 518–522.
- Ingle, S.J., Bybee, S. M., Tennessen, K. J., Whiting, M. F. & Branham, M. A. 2012. Life on the fly: phylogenetics and evolution of the helicopter damselflies (Odonata, Pseudostigmatidae). *Zoologica Scripta*, 41 (6), 637–650.
- Jacobson, G. & Bianchi, V. 1905. Die Orthopteren und Pseudoneuropteren des Russischen Reiches und der angrenzenden Gebiete, 635–846. (A. F. Dewrien, St. Petersburg).
- Jukes, T.H. & Cantor, C.R. 1969. Evolution of protein molecules. *In* Munro, H.N. (ed.) *Mammalian Protein Metabolism*, Academic Press, New York.
- Kass, R.E. & Rafferty, A.E. 1995. Bayes factors. *J. Am. Statist. Assoc.* 90, 773–795.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30, 3059–3066.
- Katoh, K., Kuma, K., Miyata, T., Toh, H. 2005. Improvement in the Accuracy of Multiple Sequence Alignment Program MAFFT. *Genome Informatics*, 16 (1), 22–33.
- Katoh, K. & Standley, D.M. 2013. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (4), 772–780.
- Kennedy, C.H. 1916. Notes on the penes of Zygoptera. *Entomological News*, 27 (7), 325–330.
- Kennedy, C.H. 1919. The phylogeny of the Zygoptera. Unpublished Ph.D. thesis, Cornell University, Ithaca, New York, 67 pls., 293 pp.
- Kennedy, C.H. 1920. Forty-two hitherto unrecognized genera and subgenera of Zygoptera. *Ohio Journal of Science*, 21 (2), 83–88.
- Kimmins, D.E. 1931. Description of the Male of *Coryphagrion grandis*, Morton (Odonata). *Annals and Magazine of Natural History*, 7, 215–217.
- Kirby, W.F. 1890. A synonymic catalogue of Neuroptera Odonata. Guerney & Jackson, London, 202 pp.

- Koroiva, R., Pepinelli, M., Rodrigues, M.E., Roque, F.O., Lorenz-Lemke, A. & Kvist, S. 2017. DNA barcoding of odonates from the Upper Plata basin: Database creation and genetic diversity estimation. *Plos One*, 12 (8), 1–14.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., & Guindon, S. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29 (6), 1695–1701.
- Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T. & Calcott, B. 2016. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution formolecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34 (3), 772–773.
- Lencioni, F.A.A. 2005. Damselflies of Brazil: An illustrated identification guide. 1—The Non-Coenagrionidae families. All Print Editora, São Paulo, 324 pp.
- Lencioni, F.A.A. 2006. Damselflies of Brazil: An illustrated identification guide. 2—Coenagrionidae families. All Print Editora, São Paulo, 419 pp.
- Lencioni, F.A.A. 2017. Damselflies of Brazil: an illustrated identification guide - Southeast region. Livro eletrônico. Jacareí, São Paulo, 544 pp.
- Lewis, P.O. 2001. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology*, 50, 913–925.
- Louton, J.A., Garrison, R.W. & Flint, O.S. 1996. The Odonata of Parque Nacional Manu, Madre de Dios, Peru; natural history, species richness and comparisons with other Peruvian sites, p. 431–449. *In*: Wilson, D.E. & Sandoval, A. (eds.). Manu, the Biodiversity of Southeastern Peru. Smithsonian Institution, Washington.
- Machado, A.B.M. 2009. *Denticulobasis* and *Tuberculobasis*, new genera close to *Leptobasis*, with description of ten new species (Odonata: Coenagrionidae). *Zootaxa* 2108, 1–36.
- Machado, A.B.M. & Martinez, A. 1982. Oviposition by egg-throwing in a zygopteran, *Mecistogaster jocaste* Hagen, 1869 (Pseudostigmatidae). *Odonatologica*, 11 (1), 15–22.
- Machado, A.B.M. & Soldati, D. 2017. Revalidation of *Platystigma* Kennedy, 1920, with a synopsis of the *quadratum* species group and the description of three new species (Odonata: Pseudostigmatidae). *Zootaxa*, 4242 (3), 493–516.
- Maddison, W.P. 1993. Missing Data versus Missing Characters in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology*, 42 (4), 576–581.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. 2019. Mesquite: a modular system for evolutionary analyses. Version 3.61. Disponível em: <http://mesquiteproject.org>.
- McLachlan, R. 1881. Notes on Odonata, of the subfamilies Corduliina, Calopterygina, and Agrionina (Légion Pseudostigma), collected by Mr. Buckley, in the district of the Rio Bobonaza, in Ecuador. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 29 (1), 25–34.

- Miller, M.A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. 2010. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, 1–8.
- Minh, B.Q., Nguyen, M.A.T. & von Haeseler, A. 2013. Ultrafast Approximation for Phylogenetic Bootstrap. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (5), 1188–1195.
- Minh, B.Q., Schmidt, H.A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M.D., von Haeseler, A. & Lanfear, R. 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution*, 37 (5), 1530–1534.
- Mirande, J.M. 2009. Weighted parsimony phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes). *Cladistics*, 25, 574–613.
- Morton, K.J. 1924. A new genus and new species of dragonflies from East Africa belonging to the Legion Podagrion (Odonata). *Entomologist*, 57, 217–220.
- Moulton, S.R., Trauth, S.E. & Harp, G.L. 1987. The mesostigmal complex of *Argia* using scanning electron microscopy (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica*, 16 (3), 285-289.
- Munz, P.A. 1919. A venational study of the suborder Zygoptera (Odonata) with keys for the identification of genera. *Memoirs of the American Entomological Society*, 3, 1–78.
- Muzón, J., Muñoz, S.W. & Campos, R.E. 2010. The larva of *Mecistogaster amalia* (Odonata: Pseudostigmatidae), *International Journal of Odonatology*, 13 (1), 137–144.
- Navás, L. 1920. Insectos Sudamericanos. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*. 90: 33-72.
- Nixon, K.C. 2002. Winclada. Version 1.61. Published by the author, Ithaca, NY, USA. Disponible em: <http://www.diversityoflife.org/winclada>.
- O’Grady, E.W. & May, M.L. 2003. A phylogenetic reassessment of the subfamilies of Coenagrionidae (Odonata: Zygoptera). *Journal of Natural History*, 37, 2807–2834.
- Paulson, D. & Schorr, M. 2020. The families and genera of Odonata. Tacoma, WA: Slater Museum of Natural History, University of Puget Sound. Disponible em: <https://www.pugetsound.edu/academics/academic-resources/slater-museum/biodiversity-resources/dragonflies/the-families-and-genera-of-odo>
- Paulson, D., Schorr, M & Deliry, C. 2021. World Odonata List. Tacoma, WA: Slater Museum of Natural History, University of Puget Sound. Disponible em: <https://www2.pugetsound.edu/academics/academic-resources/slater-museum/biodiversity-resources/dragonflies/world-odonata-list/>
- Pessacq, P. 2008. Phylogeny of Neotropical Protoneuridae (Odonata: Zygoptera) and a preliminary study of their relationship with related families. *Systematic Entomology*, 33, 511–528.

- Pessacq, P. 2014. Synopsis of *Epipleoneura* (Zygoptera, Coenagrionidae, “Protoneuridae”), with emphasis on its Brazilian species. *Zootaxa*, 3872 (3), 201–234.
- Pimenta, A.L.A., Pinto, A.P. & Takiya, D.M. 2019. Integrative taxonomy and phylogeny of the damselfly genus *Forcepsioneura* Lencioni, 1999 (Odonata: Coenagrionidae: Protoneurinae) with description of two new species from the Brazilian Atlantic Forest. *Arthropod Systematics & Phylogeny*, 77 (3), 397–415.
- Rambaut, A. 2018. FigTree version 1.4.4. Tree Figure Drawing Tool. Disponible em: <https://github.com/rambaut/figtree/releases/tag/v1.4.4>.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M.A. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67 (5), 901–904.
- Rambur, J.P. 1842. Histoire naturelle des insectes. Névroptères. (Suites à Bufón). Paris, Roret, xvii + 534 pp.
- Ramírez, A. 1995. Descripción e historia natural de las larvas de Odonatos de Costa Rica. IV: *Mecistogaster ornata* (Rambur, 1842) (Zygoptera, Pseudostigmatidae). *Bulletin of American Odonatology*, 3 (2), 43–47.
- Rehn, A.C. 2003. Phylogenetic analysis of higher-level relationships of Odonata. *Systematic Entomology*, 28, 181–239.
- Riek, E.F. & Kukalová-Peck, J. 1984. A new interpretation of dragonfly wing venation based upon Early Upper Carboniferous fossils from Argentina (Insecta: Odonatoidea) and basic character states in pterygote wings. *Canadian Journal of Zoology*, 62, 1150–1166.
- Ris, F. 1918. Libellen (Odonata) aus der Region der amerikanischen Kordilleren von Costarica bis Catamarca. *Archiv für Naturgeschichte A* (9), 1–197.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. & Teslenko, M. 2011. MrBayes version 3.2 Manual: Tutorials and Model Summaries. 183 pp.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61 (3), 539–542.
- Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. 2018. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2018 Annual Checklist. Digital resource at www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2018. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands.
- Sahlén, G. & Hedström, I. 2005. The larva of *Mecistogaster linearis*, with notes on its abundance in lowland rainforest of Costa Rica (Odonata: Pseudostigmatidae). *International Journal of Odonatology*, 8 (1), 59–66.

- Santos, N.D. 1957. *Leptobasis costa-limai* sp. nov. (Odonata-Coenagrionidae). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série Zoologia*, 157, 1–6.
- Santos, N.D. 1979. Descrição de *Leptagrion bocainense* Santos, 1978 cenagrionídeo bromelícola (Odonata: Coenagrionidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 8 (1), 167–173.
- Santos Jr., J.E., Santos, F.R. & Silveira, F.A. 2015. Hitting an Unintended Target: Phylogeography of *Bombus brasiliensis* Lepeletier, 1836 and the First New Brazilian Bumblebee Species in a Century (Hymenoptera: Apidae). *Plos One*, 10, 125–132.
- Schuh, R.T. & Brower, A.V.Z. 2009. *Biological Systematics: Principles and Applications*. 2 ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, 311 pp.
- Selys-Longchamps, E. 1860. Synopsis des Agrionines, Première Légion, Pseudostigma. *Bulletin de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux, Arts de Belgique*, 2 (10), 9–27.
- Selys-Longchamps, E. 1886. Revision du Synopsis des Agrionines, Première partie comprenant les legions Pseudostigma-Podagrion-Platycnemis et Protoneura. *Mémoires couronnés et autres Mémoires, Académie Royale de Belgique*, 38 (4), iv + 233.
- Sereno, P.C. 2007. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics*, 23, 565–587.
- Schmidt, E. 1951. Libellen aus Portugiesisch Guinea, mit Bemerkungen über andere aethiopische Odonaten. *Arquivos Museu Bocage*, 20, 125–200.
- Silby, J. 2001. *Dragonflies of the World*. Smithsonian Institution Press, Washington, 216 pp.
- Sjöstedt, Y. 1918. Wissenschaftliche Ergebnisse der Swedischen Entomologischen Reise des Herrn Dr. A. Roman in Amazonas 1914-1915. 1-Odonata. *Arkiv vor Zoologi*, 11 (15), 1–54.
- Soldati, D. & Machado, A.B.M. 2019. The damselfly genus *Mecistogaster* (Odonata: Pseudostigmatidae) from the Brazilian Atlantic Forest with a description of three new species and a neotype designation for *M. amalia* (Burmeister, 1839). *Zootaxa*, 4668 (2), 207–228.
- Souza, L.O.I.; Costa, J. M. & Oldrini, B. B. 2007. Odonata. *In: Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo*. Froehlich, C.G. (org.). Disponível em: http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online.
- Steinmann, H. 1997. *World Catalogue of Odonata: Zygoptera*. Walter de Gruyter, 501 pp.
- St. Quentin, D. & M. Beier. 1968. Odonata. *Handbook of Zoology*, 4 (2), 2/6, 1–39.
- Suhling, F., Sahlén, G., Gorb, S., Kalkman, V.J., Dijkstra K-D.B. & von Tol, J. 2015. Order Odonata. *In: Thorp, J.H. & Rogers, D.C. (eds.), Ecology and General Biology*:

- Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Vol. 1, 4th Edition, Academic Press-Elsevier, 893–932 pp.
- Swofford, D.L. & W.P. Maddison. 1987. Reconstructing ancestral character states under Wagner parsimony. *Mathematical Biosciences*, 87, 199–229.
- Tillyard, R.J. 1917. *The Biology of Dragonflies (Odonata or Paraneuroptera)*. Cambridge University Press, 375 pp.
- Tillyard, R.J. & Fraser, F.C. 1938-1940. A reclassification of the order Odonata, based on some new interpretations of the venation of the dragonfly wing. Part I, II, III. *Australian Zoologist*, 9 (2), 125-169; 9 (3), 195-221; 9 (4), 359-396.
- Toussaint, E.F.A., Bybee, S.M., Erickson, R.J. & Condamine, F.L. 2019. Forest giants on different evolutionary branches: Ecomorphological convergence in helicopter damselflies. *Evolution*, 1–10.
- Vaidya, G., Lohman, D.J. & Meier, R. 2011. SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multigene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27, 171–180.
- Vilela, D.S., Anjo-Santos, D., Koroiva, R., Cordero-Rivera, A. & Guillermo-Ferreira, R. 2020. Revision of the genus *Minagrion* Santos, 1965 (Odonata: Coenagrionidae). *Zootaxa*, 4786 (2), 176–198.
- Vilela, D.S., Koroiva, R., Cordero-Rivera, A. & Guillermo-Ferreira, R. 2019. A further study on *Franciscobasis* Machado & Bedê, 2016 (Odonata: Coenagrionidae), a newly described genus from Minas Gerais, Brazil. *Plos One*, 14 (10), 1–14.
- Von Ellenrieder, N. & Garrison, R.W. 2017. A synopsis of the Neotropical genus *Protoneura* (Odonata: Coenagrionidae). *Zootaxa*, 4361 (1), 1–76.
- Westfall, M.J., Jr. & May, M.L. 2006. *Damselflies of North America*. Revised Edition, Science Publishers, Gainesville, FL, USA, 502 pp.
- Xie, W., Lewis, P.O., Fan, Y., Kuo, L. & Chen, M.H. 2011. Improving marginal likelihood estimation for Bayesian phylogenetic model selection. *Syst. Biol.* 60, 150–160.

ANEXOS

Anexo 1. Número de espécimes (macho e fêmea) examinados por espécie na análise filogenética com dados morfológicos para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). O enraizamento foi feito em *Lestes pictus*. Os países indicados fazem referência à procedência dos espécimes examinados. No envelope de um dos espécimes de *Anomisma abnorme*, o país de procedência (Peru) estava seguido por “?”. Em negrito= espécies-tipo do gênero; (*)= codificação baseada em ilustrações e/ou descrições encontradas na literatura; A= alótipo; H= holótipo; L= lectótipo; N= neótipo; P= parátipo. Protoneuridae VM= representantes de Protoneuridae do Velho Mundo; os outros protoneurídeos são representantes de Protoneuridae do Novo Mundo.

	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N DE ESPÉCIMES ♂	N DE ESPÉCIMES ♀	PAÍSES	COLEÇÃO
GRUPO EXTERNO	Lestidae	<i>Lestes pictus</i> Hagen in Selys, 1862	9	3	Brasil, Argentina	CCT-UFMG; UFPA; R.W. Garrison Collection
	Megapodagrionidae	<i>Heteragrion aurantiacum</i> Selys, 1862	13	7	Brasil	CCT-UFMG; Coleção F.A.A. Lencioni
	Megapodagrionidae	Megapodagrion megalopus (Selys, 1862)	5	4	Brasil	CCT-UFMG
	Calopterygidae	<i>Argaerina rosea</i> Selys, 1853	7	4	Brasil, Argentina	CCT-UFMG
	Calopterygidae	<i>Mnesarete pudica</i> (Hagen in Selys, 1853)	3	3	Brasil	CCT-UFMG
	Platycnemididae	<i>Allocnemis mitwabae</i> Pinhey, 1961	1	*	República Democrática do Congo	CCT-UFMG
	Platycnemididae	<i>Mesocnemis singularis</i> Karsch, 1891	1	1	Uganda	CCT-UFMG
	Platycnemididae	Platycnemis pennipes (Pallas, 1771)	3	2	Itália, França	CCT-UFMG; NHM
	Platycnemididae	<i>Pseudocopera tokyoensis</i> (Asahina, 1948)	1	1	Japão	CCT-UFMG
	Protoneuridae VM	Elatoneura glauca (Burmeister in Selys, 1860)	1	1	Etiópia	NHM
Protoneuridae VM	<i>Elatoneura vittata</i> Selys, 1886	1	1	Nigéria, Camarões	NHM	
GRUPO INTERNO	Protoneuridae	<i>Epipleoneura machadoi</i> Rácenis, 1960	2	*	Brasil	UFPA
	Protoneuridae	<i>Epipleoneura venezuelensis</i> Rácenis, 1955	4	2	Brasil	UFPR
	Protoneuridae	Neoneura bilinearis Selys, 1860	6	1	Brasil	CCT-UFMG
	Protoneuridae	<i>Neoneura fulvicollis</i> Selys, 1886	5	1	Brasil, Venezuela	CCT-UFMG; INPA
	Protoneuridae	<i>Neoneura rubriventris</i> Selys, 1860	2	1	Brasil	CCT-UFMG; INPA; UFPA
	Protoneuridae	<i>Neoneura sylvatica</i> Hagen in Selys, 1886	7	5	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Protoneuridae	Protoneura capillaris (Rambur, 1842)	1	*	Cuba	University of Florida Collection
	Protoneuridae	<i>Protoneura paucinervis</i> Selys, 1886	4	3	Peru, Brasil	CCT-UFMG - Ex R.W. Garrison Collection
	Protoneuridae	<i>Protoneura scintilla</i> Gloyd, 1939	4	1	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Coenagrionidae	<i>Acanthagrion gracile</i> (Rambur, 1842)	3	1	Brasil	CCT-UFMG; F.A.A. Lencioni
	Coenagrionidae	<i>Argia nahuana</i> Calvert, 1902	1	1	EUA	R.W. Garrison Collection
	Coenagrionidae	<i>Argia oculata</i> Hagen in Selys, 1865	1	1	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Argia reclusa</i> Selys, 1865	1	1	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Argia sedula</i> (Hagen, 1861)	2	2	EUA	R.W. Garrison; M.J. Westfall Jr.
	Coenagrionidae	Bromeliagrion rehni Garrison, 2005	2	*	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Ceragrion melanurum</i> Selys, 1876	1	1	Japão	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	Coenagrion puella (Linnaeus, 1758)	1	1	Suíça	NHM
	Coenagrionidae	<i>Diceratobasis macrogaster</i> (Selys in Sagra, 1857)	1	*	Jamaica	University of Florida Collection - Ex Carnegie Museum
	Coenagrionidae	Franciscobasis franciscoi Machado & Bedé, 2016	4 (H, P)	1 (A)	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Inpabasis rosea</i> (Selys, 1877)	4		Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Ischnura capreolus</i> (Hagen, 1861)	9	5	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Coenagrionidae	<i>Ischnura fluviatilis</i> Selys, 1876	4	4	Brasil, Argentina	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Ischnura senegalensis</i> (Rambur, 1842)	1	1	China	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Leptagrion bocainense</i> Santos, 1979	2	*	América do Sul	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	Leptagrion macrurum (Burmeister, 1839)	5	2	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	Leptobasis vacillans Hagen in Selys, 1877	9	12	Colômbia, Venezuela, Guatemala, Panamá	CCT-UFMG; C.H. Kennedy Collection
	Coenagrionidae	<i>Metaleptobasis bicornis</i> (Selys, 1877)	1	1	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Minagrion caldense</i> Santos, 1965	4 (P)	1	Brasil	Museu Nacional (UFRRJ); CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Minagrion waltheri</i> (Selys, 1876)	4	4	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Nehalennia minuta</i> (Selys in Sagra, 1857)	3	*	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Nehalennia speciosa</i> (Charpentier, 1840)	1	1	Japão	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Oxyagrion terminale</i> Selys, 1876	6	3	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	Oxyagrion rubidum (Rambur, 1842)	1	1	Argentina	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	Poenicagrion flammeum (Selys, 1876)	4	4	Brasil	INPA, UFPA
	Coenagrionidae	<i>Pseudagrion kersteni</i> (Gerstäcker, 1869)	1	1	Zimbábue	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Pseudagrion spernatum</i> Selys, 1881	2		Zimbábue	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Telebasis corallina</i> (Selys, 1876)	6	1	Brasil, Venezuela	CCT-UFMG; J. Rácenis Collection
	Coenagrionidae	<i>Telebasis paraensei</i> Machado, 1956	5		Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Tuberculobasis costalimai</i> (Santos, 1957)	1	*	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Tuberculobasis tirio</i> Machado, 2009	2 (H, P)		Brasil	CCT-UFMG
	Pseudostigmatidae	Anomisma abnorme McLachlan, 1877	2 (H)	1	Brasil, Peru?	CCT-UFMG; NHM
	Pseudostigmatidae	<i>Coryphagrion grandis</i> Morton, 1924	1	1	Nigéria	NHM
	Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster amalia</i> (Burmeister, 1839)	18 (N)	8 (A)	Brasil, Paraguai	CCT-UFMG
	Pseudostigmatidae	Mecistogaster linearis (Fabricius, 1777)	17	19	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster lucretia</i> (Drury, 1773)	7	5	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster modesta</i> Selys, 1860	1		México	R.W. Garrison Collection
	Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster ornata</i> Rambur, 1842	4	4	Brasil	CCT-UFMG; AMNH
	Pseudostigmatidae	Megaloprepus caerulatus (Drury, 1782)	3	1	México, Colômbia	CCT-UFMG
	Pseudostigmatidae	Microstigma anomalum Rambur, 1842	6	2	Brasil	CCT-UFMG; S.W. Dunkle Collection
	Pseudostigmatidae	<i>Microstigma rotundatum</i> Selys, 1860	10	4	Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma astictum</i> (Selys, 1860)	2	4	Brasil	CCT-UFMG	
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma buckleyi</i> (McLachlan, 1881)	3 (L)	1	Brasil, Equador	CCT-UFMG; NHM	
Pseudostigmatidae	Platystigma focaste (Hagen, 1869)	2	8	Brasil	CCT-UFMG; AMNH	
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma martinezi</i> Machado, 1985	1	1	Bolívia	CCT-UFMG	
Pseudostigmatidae	Pseudostigma aberrans Selys, 1860	1	2	México, Guatemala	R.W. Garrison Collection; NHM	
Pseudostigmatidae	<i>Pseudostigma accedens</i> Selys, 1860	1	*	México	CCT-UFMG	

Anexo 2. Arquivo de comandos implementado no *software* TNT para a análise filogenética com dados morfológicos com pesagem implícita, na qual o suporte dos ramos foi estimado através do suporte relativo de Bremer baseado no cálculo das diferenças de *fit* relativo entre as árvores ótimas e as árvores subótimas.

```
macro= ;
bb: fillonly ;
hold 3000 ;
subopt 11x0.01 ;
bbreak ;
hold 6000 ;
subopt 11x0.1 ;
bbreak ;
hold 9000 ;
subopt 11x0.2 ;
bbreak ;
hold 12000 ;
subopt 11x0.3 ;
bbreak ;
hold 15000 ;
subopt 11x0.4 ;
bbreak ;
hold 18000 ;
subopt 11x0.5 ;
bbreak ;
hold 21000 ;
subopt 11x0.6 ;
bbreak ;
hold 24000 ;
subopt 11x0.7 ;
bbreak ;
hold 27000 ;
subopt 11x0.8 ;
bbreak ;
hold 30000 ;
subopt 11x0.9 ;
bbreak ;
ttag = ;
bsup ;
bsup [ ;
ttag ;
```

Anexo 3. Melhores modelos de substituição para cada partição indicados pelo PartitionFinder2 para as análises de Inferência Bayesiana e de Máxima Verossimilhança da posição filogenética de Pseudostigmatidae e das relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). Cada um dos números da partição do COI representa o conjunto de caracteres relacionados a cada uma das três posições do códon.

	16S	28S	COI_1	COI_2	COI_3
Inferência Bayesiana					
Máxima Verossimilhança	GTR+I+G	GTR+I+G	GTR+G	GTR+I+G	GTR+G

Anexo 4. Arquivo de comandos implementado no programa MrBayes para a análise de Inferência Bayesiana (matriz não apresentada) com os genes concatenados para avaliar a posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera).

```
#NEXUS
BEGIN DATA;

    DIMENSIONS NTAX=39 NCHAR=2246;
    FORMAT DATATYPE=DNA GAP=- MISSING=?

MATRIX [não apresentada]
END;

begin mrbayes;
Outgroup Mesocnemis_singularis;
  CHARSET 16S = 1-376;
  CHARSET 28S = 377-1711;
  CHARSET COI1 = 1712-2246\3;
  CHARSET COI2 = 1713-2246\3;
  CHARSET COI3 = 1714-2246\3;

  partition PartitionFinder = 5:16S, 28S, COI1, COI2, COI3;
  set partition=PartitionFinder;

  lset applyto=(1, 2, 4) nst=6 rates=invgamma;
  lset applyto=(3, 5) nst=6 rates=gamma;

  prset applyto=(all) ratepr=variable;
  unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all) tratio=(all);

mcmc ngen=30000000 temp=0.05 swapfreq=1000 samplefreq=1000 printfreq=1000
nrns=2 nchains=4 relburnin=yes burninfrac=0.25 savebrlens=yes;
sump;
sumt;

end;
```

Anexo 5. Arquivo de comandos implementado no *software* IQTree2 através do prompt de comando para a análise de Máxima Verossimilhança com os genes concatenados e com os dados morfológicos e moleculares combinados, para avaliar a posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera).

```
iqtree -s arquivo.phy -spp partitions.nex -b 1000 -bb 1000 -wbt -nt AUTO
```

Anexo 6. Arquivo de comandos implementado no programa MrBayes para a análise de Inferência Bayesiana (matrizes não apresentadas) dos dados morfológicos e moleculares combinados para avaliar a posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera).

```
#NEXUS
BEGIN DATA;

    DIMENSIONS NTAX=39 NCHAR=2318;
    FORMAT DATATYPE=mixed(Standard:1-72,DNA:73-2318) interleave=yes
    gap=- missing=?;
```

MATRIX [não apresentadas]
END;

```
begin mrbayes;
  Outgroup Mesocnemis_singularis;
  CHARSET morphology = 1-72;
    CHARSET 16S = 73-448;
    CHARSET 28S = 449-1783;
    CHARSET COI1 = 1784-2318\3;
    CHARSET COI2 = 1785-2318\3;
    CHARSET COI3 = 1786-2318\3;

  partition favored=6:morphology,16S,28S,COI1,COI2,COI3;
  set partition=favored;

  lset applyto=(1) rates=gamma;
  lset applyto=(2) rates=invgamma nst=6;
  lset applyto=(3) rates=invgamma nst=6;
  lset applyto=(4) rates=gamma nst=6;
  lset applyto=(5) rates=invgamma nst=6;
  lset applyto=(6) rates=gamma nst=6;

  prset applyto=(all) ratepr=variable;
  unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all) tratio=(all);

  mcmc ngen=30000000 temp=0.05 swapfreq=1000 samplefreq=1000 printfreq=1000
  nruns=2 nchains=4 relburnin=yes burninfrac=0.25 savebrlens=yes;
  sump;
  sumt;

end;
```

Anexo 7. Espécies incluídas na análise filogenética com dados moleculares para a inferência da posição filogenética de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera), código de acesso das sequências para cada gene e o número de sequências utilizadas nas análises retiradas do Genbank e adquiridas no presente estudo para cada espécie. AB= Futahashi (2011); DQ= Groeneveld *et al.* (2007); EU= Bybee *et al.* (2008); JQ= Ingley *et al.* (2012); KC= Bergmann *et al.* (2013); KF= Dijkstra *et al.* (2014); KU= Ferreira *et al.* (2016); KY= Koroiva *et al.* (2017); MN3= Pimenta *et al.* (2019); MN8= Vilela *et al.* (2020); MK= Vilela *et al.* (2019). Os táxons que tiveram o seu DNA sequenciado no presente estudo estão indicados com o código DS. Em negrito= grupos externos. Protoneuridae VM= representantes

de Protoneuridae do Velho Mundo; os outros protoneurídeos são representantes de Protoneuridae do Novo Mundo.

Família	Táxon	Código de acesso		
		16S	28S	COI
Pseudostigmatidae	<i>Anomisma abnorme</i>	KF369619	JQ966592	KF369299
Coenagrionidae	<i>Argia nahuana</i>	EU055128	EU055319	
Coenagrionidae	<i>Argia oculata</i>	KF369627		KF369306
Coenagrionidae	<i>Argia reclusa</i>			KY947428
Coenagrionidae	<i>Bromeliagrion rehni</i>	KF369648	KF370045	
Coenagrionidae	<i>Ceriagrion melanurum</i>	AB707533		
Coenagrionidae	<i>Coenagrion puella</i>	KU695869		KU695873
Pseudostigmatidae	<i>Coryphagrion grandis</i>	DQ642981		KY847618
Protoneuridae VM	<i>Elattonaura glauca</i>	KF369713	KF370112	
Protoneuridae VM	<i>Elattonaura vittata</i>	KF369865	KF370264	KF369513
Coenagrionidae	<i>Franciscobasis franciscoi</i>			MK598034
Megapodagrionidae	<i>Heteragrion aurantiacum</i>	DS		DS
Coenagrionidae	<i>Inpabasis rosea</i>	KF369748	KF370147	KF369413
Coenagrionidae	<i>Ischnura capreolus</i>	DS		DS
Coenagrionidae	<i>Ischnura fluviatillis</i>			KU220895
Coenagrionidae	<i>Ischnura senegalensis</i>		KF370150	MK818643
Coenagrionidae	<i>Leptobasis vacillans</i>			MN344181
Lestidae	<i>Lestes virens</i>	KF369760	KF370159	KF369424
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster linearis</i>	KF369773	KF370172	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster lucretia</i>	KF369774	KF370173	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster modesta</i>	JQ966657	JQ966598	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster ornata</i>	JQ966658	DS	DS
Calopterygidae	<i>Mnesarete pudica</i>			KY947359
Pseudostigmatidae	<i>Megaloprepus caerulatus</i>	JQ966660	JQ966600	MN345299
Platycnemididae	<i>Mesocnemis singularis</i>	KF369777	KF370176	KF369439
Coenagrionidae	<i>Metaleptobasis bicornis</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Microstigma anomalum</i>	EU055119	EU055310	MN344765
Pseudostigmatidae	<i>Microstigma rotundatum</i>	KF369786	KF370185	MN344781
Coenagrionidae	<i>Minagrion caldense</i>			MN816830
Coenagrionidae	<i>Minagrion waltheri</i>		DS	
Coenagrionidae	<i>Nehalennia minuta</i>	DS		DS
Coenagrionidae	<i>Nehalennia speciosa</i>	AB707574		
Protoneuridae	<i>Neoneura fulvicollis</i>	KF369795	KF370194	
Protoneuridae	<i>Neoneura rubriventris</i>	KF369796	KF370195	
Protoneuridae	<i>Neoneura sylvatica</i>	DS	DS	DS
Coenagrionidae	<i>Oxyagrion terminale</i>			KU220896
Coenagrionidae	<i>Phoenicagrion flammeum</i>	KF369846	KF370245	KF369496
Platycnemididae	<i>Platycnemis pennipes</i>	KF369849	KF370248	
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma astictum</i>	JQ966654		KC912403
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma buckleyi</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma jocaste</i>	JQ966659	JQ966599	
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma martinezi</i>	JQ966656	JQ966597	KC912404
Protoneuridae	<i>Protoneura capillaris</i>	EU055089		
Protoneuridae	<i>Protoneura paucinervis</i>	KF369871	KF370270	
Protoneuridae	<i>Protoneura scintilla</i>	KF369872		
Coenagrionidae	<i>Pseudagrion kersteni</i>	KF369878	KF370277	KY847622
Pseudostigmatidae	<i>Pseudostigma aberrans</i>	DQ642984	FJ009934	MN345668
Coenagrionidae	<i>Telebasis corallina</i>	DS	DS	

Anexo 8. Número de espécimes (macho e fêmea) examinados por espécie na análise filogenética com dados morfológicos para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera). O enraizamento foi feito em *Ischnura fluviatilis*. Os países indicados fazem referência à procedência dos espécimes examinados. Em negrito= espécies-tipo do gênero; (*)= codificação baseada em ilustrações e/ou descrições encontradas na literatura; A= alótipo; H= holótipo; L= lectótipo; N= neótipo; P= parátipo

	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N DE ESPÉCIMES ♂	N DE ESPÉCIMES ♀	PAÍSES	COLEÇÃO
GRUPO EXTERNO	Coenagrionidae	<i>Ischnura fluviatilis</i> Selys, 1876	4	4	Brasil, Argentina	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Bromeliagrion rehnii</i> Garrison, 2005	2	*	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Coenagrion puella</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	Suíça	NHM
	Coenagrionidae	<i>Diceratobasis macrogaster</i> (Selys in Sagra, 1857)	1	*	Jamaica	University of Florida Collection - Ex Carnegie Museum
	Coenagrionidae	<i>Leptagrion bocainense</i> Santos, 1979	2	*	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Leptagrion macrurum</i> (Burmeister, 1839)	5	2	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Metaleptobasis bicornis</i> (Selys, 1877)	1	1	Brasil	INPA
	Coenagrionidae	<i>Nehalennia minuta</i> (Selys in Sagra, 1857)	1	*	Brasil	CCT-UFMG
	Coenagrionidae	<i>Nehalennia speciosa</i> (Charpentier, 1840)	1	1	Japão	CCT-UFMG
	Protoneturidae	<i>Neoneura bilinearis</i> Selys, 1860	6	1	Brasil	CCT-UFMG
	Protoneturidae	<i>Neoneura sylvatica</i> Hagen in Selys, 1886	7	5	Brasil	CCT-UFMG; INPA
	Protoneturidae	<i>Protonectura capillaris</i> (Rambur, 1842)	1	*	Cuba	University of Florida Collection
	GRUPO INTERNO	Protoneturidae	<i>Protonectura paucinervis</i> Selys, 1886	4	3	Peru, Brasil
Pseudostigmatidae		<i>Anomisma abnorme</i> McLachlan, 1877	2 (H)	1	Brasil, Peru?	CCT-UFMG; NHM
Pseudostigmatidae		<i>Coryphagrion grandis</i> Morton, 1924	1	1	Nigéria	NHM
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster amalia</i> (Burmeister, 1839)	18 (N)	8 (A)	Brasil, Paraguai	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster kesselringi</i> Soldati & Machado, 2019	8 (H, P)	9 (A)	Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster linearis</i> (Fabricius, 1777)	17	19	Brasil	CCT-UFMG; INPA
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster lucretia</i> (Drury, 1773)	7	5	Brasil	CCT-UFMG; INPA
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster mielkei</i> Soldati & Machado, 2019	17 (H, P)		Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster modesta</i> Selys, 1860	1		México	R.W. Garrison Collection
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster nordestina</i> Soldati & Machado, 2019	5 (H, P)		Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Mecistogaster ornata</i> Rambur, 1842	4	4	Brasil	CCT-UFMG; AMNH
Pseudostigmatidae		<i>Megaloprepus caeruleus</i> (Drury, 1782)	3	1	México, Colômbia	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Microstigma anomalum</i> Rambur, 1842	6	2	Brasil	CCT-UFMG; S.W. Dunkl Collection
Pseudostigmatidae		<i>Microstigma maculatum</i> Hagen in Selys, 1860	7	3	Brasil	CCT-UFMG; INPA
Pseudostigmatidae		<i>Microstigma rotundatum</i> Selys, 1860	10	4	Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma astictum</i> (Selys, 1860)	2	4	Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma buckleyi</i> (McLachlan, 1881)	3 (L)	1	Brasil, Equador	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma humaita</i> Machado & Soldati, 2017	1 (H)		Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma jocaste</i> (Hagen, 1869)	2	8	Brasil	CCT-UFMG; AMNH
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma martinezi</i> Machado, 1985	1	1	Bolívia	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma minimum</i> Machado & Soldati, 2017	1 (H)		Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Platystigma quadratum</i> Machado & Soldati, 2017	5 (H, P)		Brasil	CCT-UFMG
Pseudostigmatidae		<i>Pseudostigma aberrans</i> Selys, 1860	1	2	México, Guatemala	R.W. Garrison Collection
Pseudostigmatidae	<i>Pseudostigma accedens</i> Selys, 1860	1	*	México	CCT-UFMG	

Anexo 9. Arquivo de comandos implementado no programa MrBayes para a análise de Inferência Bayesiana (matriz não apresentada) com os genes concatenados para avaliar as relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera).

#NEXUS

BEGIN DATA;

DIMENSIONS NTAX=28 NCHAR=2410;

FORMAT DATATYPE=DNA GAP=- MISSING=? ;

MATRIX [não apresentada]

END;

begin mrbayes;

Outgroup *Ischnura fluviatilis*;

CHARSET 16S = 1-392;

CHARSET 28S = 393-1754;

CHARSET COI1 = 1755-2410\3;

CHARSET COI2 = 1756-2410\3;

```

CHARSET COI3 = 1757-2410\3;

set partition=PartitionFinder;

lset applyto=(1) nst=6 rates=invgamma;
lset applyto=(2) nst=6 rates=invgamma;
lset applyto=(3) nst=6 rates=gamma;
lset applyto=(4) nst=6 rates=invgamma;
lset applyto=(5) nst=2 rates=gamma;

prset applyto=(all) ratepr=variable;
unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all) tratio=(all);

mcmc ngen=30000000 temp=0.05 swapfreq=1000 samplefreq=1000 printfreq=1000
nrns=2 nchains=4 relburnin=yes burninfrac=0.25 savebrlens=yes;
sump;
sumt;

end;

Anexo 10. Arquivo de comandos implementado no programa MrBayes para a análise de Inferência Bayesiana (matrizes não apresentadas) dos dados morfológicos e moleculares combinados para avaliar as relações filogenéticas entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera).

#NEXUS
BEGIN DATA;

    DIMENSIONS NTAX=27 NCHAR=2477;
    FORMAT DATATYPE=mixed(Standard:1-67,DNA:68-2477) interleave=yes
    gap=- missing=?;

MATRIX [não apresentadas]

END;

begin mrbayes;
Outgroup Ischnura_fluviatilis;
    CHARSET morphology = 1-67;
    CHARSET 16S = 68-459;
    CHARSET 28S = 460-1821;
    CHARSET COI1 = 1822-2477\3;
    CHARSET COI2 = 1823-2477\3;
    CHARSET COI3 = 1824-2477\3;

    partition favored=6:morphology,16S,28S,COI1,COI2,COI3;
    set partition=favored;

    lset applyto=(1) rates=gamma;
    lset applyto=(2) rates=invgamma nst=6;
    lset applyto=(3) rates=invgamma nst=6;
    lset applyto=(4) rates=gamma nst=6;
    lset applyto=(5) rates=invgamma nst=6;

```

lset applyto=(6) rates=gamma nst=6;

prset applyto=(all) ratepr=variable;

unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape=(all) pinvar=(all) ratio=(all);

mcmc ngen=3000000 temp=0.05 swapfreq=1000 samplefreq=1000 printfreq=1000
nrns=2 nchains=4 relburnin=yes burnfrac=0.25 savebrlens=yes;

sump;

sumt;

end;

Anexo 11. Espécies incluídas na análise filogenética com dados moleculares para a reconstrução das relações entre os gêneros e espécies de Pseudostigmatidae (Odonata, Zygoptera), código de acesso das sequências para cada gene e o número de sequências utilizadas nas análises retiradas do Genbank e adquiridas no presente estudo para cada espécie. AB= Futahashi (2011); DQ= Groeneveld *et al.* (2007); EU= Bybee *et al.* (2008); JQ= Ingley *et al.* (2012); KC= Bergmann *et al.* (2013); KF= Dijkstra *et al.* (2014); KU= Ferreira *et al.* (2016); KY= Koroiva *et al.* (2017); MN3= Pimenta *et al.* (2019). Os táxons que tiveram o seu DNA sequenciado no presente estudo estão indicados com o código DS. Em negrito= grupos externos.

Família	Táxon	Código de acesso		
		16S	28S	COI
Pseudostigmatidae	<i>Anomisma abnorme</i>	KF369619	JQ966592	KF369299
Coenagrionidae	<i>Bromeliagrion rehni</i>	KF369648	KF370045	
Coenagrionidae	<i>Coenagrion puella</i>	KU695869		KU695873
Pseudostigmatidae	<i>Coryphagrion grandis</i>	DQ642981		KY847618
Coenagrionidae	<i>Ischnura fluviatillis</i>			KU220895
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster linearis</i>	KF369773	KF370172	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster lucretia</i>	KF369774	KF370173	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster modesta</i>	JQ966657	JQ966598	
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster nordestina</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster ornata</i>	JQ966658	DS	DS
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster sp.</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Mecistogaster sp.n.</i>			DS
Pseudostigmatidae	<i>Megaloprepus caerulatus</i>	JQ966660	JQ966600	MN345299
Coenagrionidae	<i>Metaleptobasis bicornis</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Microstigma anomalum</i>	EU055119	EU055310	MN344765
Pseudostigmatidae	<i>Microstigma maculatum</i>			DS
Pseudostigmatidae	<i>Microstigma rotundatum</i>	KF369786	KF370185	MN344781
Coenagrionidae	<i>Nehalennia minuta</i>	DS		DS
Coenagrionidae	<i>Nehalennia speciosa</i>	AB707574		
Protoneuridae	<i>Neoneura sylvatica</i>	DS	DS	DS
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma astictum</i>	JQ966654		KC912403
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma buckleyi</i>	DS		DS
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma jocaste</i>	JQ966659	JQ966599	
Pseudostigmatidae	<i>Platystigma martinezi</i>	JQ966656	JQ966597	KC912404
Protoneuridae	<i>Protoneura capillaris</i>	EU055089		
Protoneuridae	<i>Protoneura paucinervis</i>	KF369871	KF370270	
Pseudostigmatidae	<i>Pseudostigma aberrans</i>	DQ642984	FJ009934	MN345668

Anexo 12. Morfologia geral do tórax, asas e genitália de Zygotera com indicação das principais estruturas.

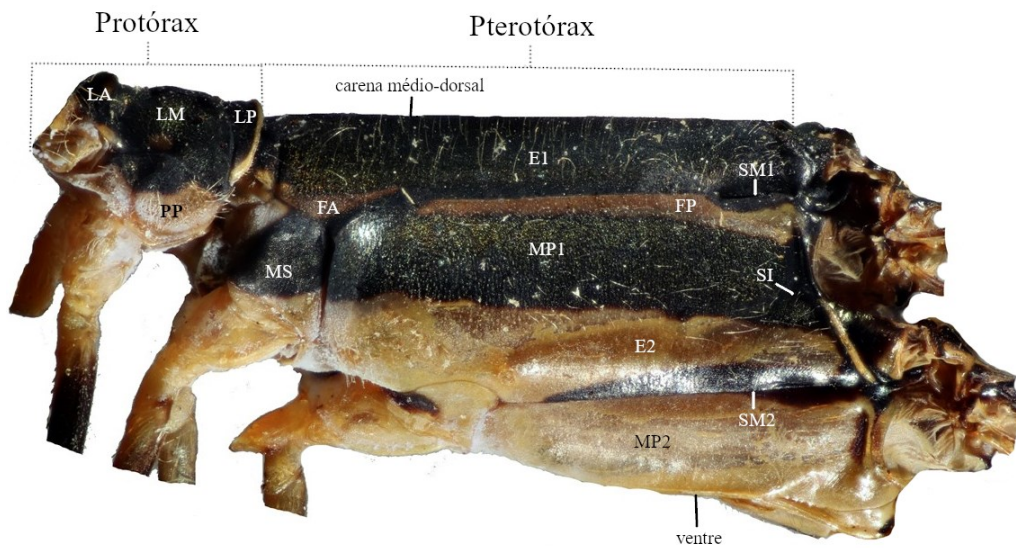


Figura 1. Indicação das principais estruturas do tórax, vista lateral, *Platystigma jocaste*. LA= lobo anterior; LM= lobo médio; LP= lobo posterior; PP= propleura; E1= mesepisterno; E2= metepisterno; SM1= sutura mesopleural; SM2= sutura metapleural; SI= sutura interpleural; FA= faixa antehumeral; FP= faixa pós-humeral; MS= mesinfraepisterno; MP1= mesepímero; MP2= metepímero.

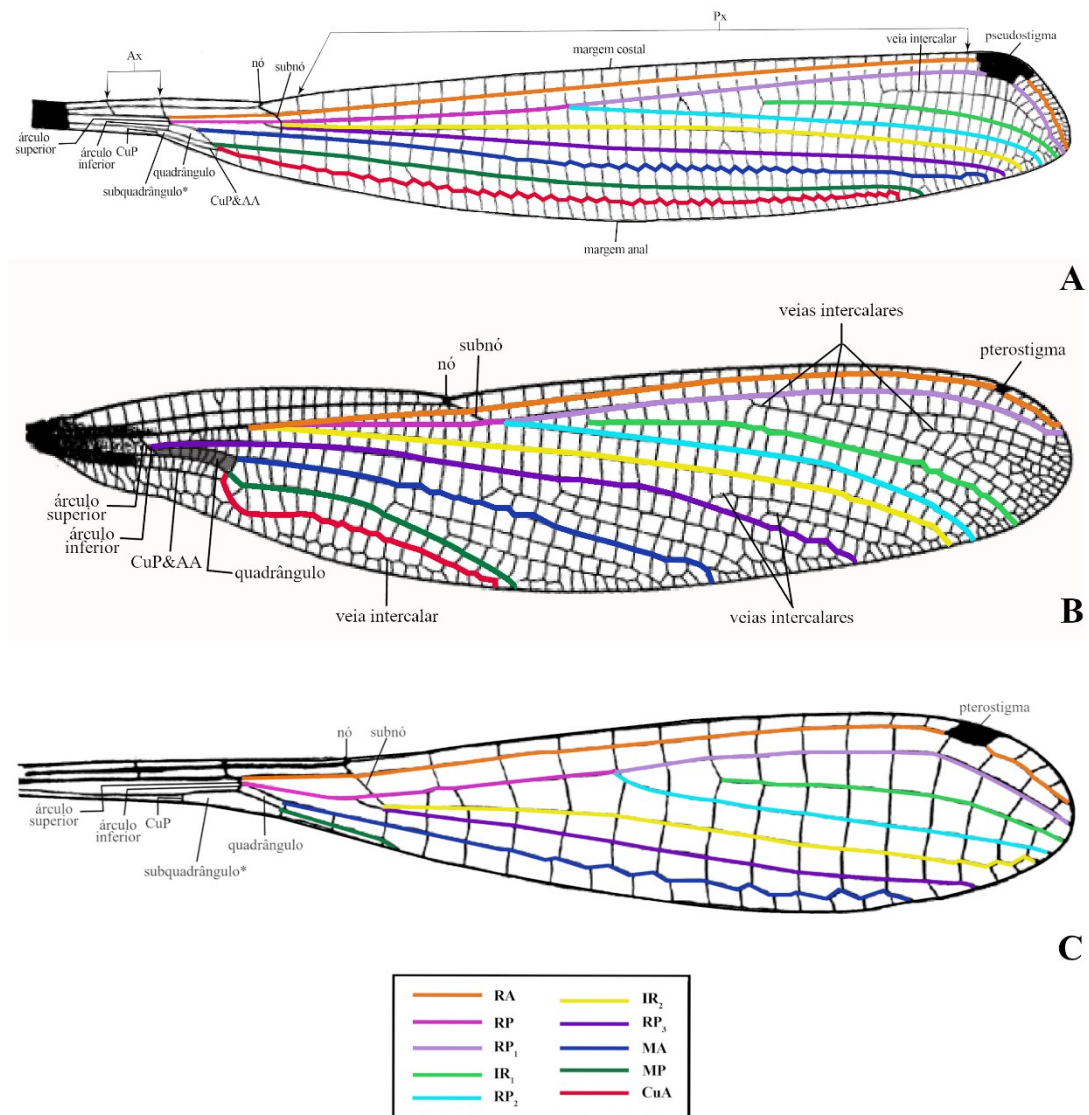


Figura 2. Indicação das principais veias e células, sendo a terminologia adotada proposta por Riek & Kukalova-Peck (1984), modificada por Rehn (2003). RA= radial anterior; RP= radial posterior; RP₁= radial posterior 1; RP₂= radial posterior 2; RP₃= radial posterior 3; IR₁= intercalar 1; IR₂= intercalar 2; MA= medial anterior; MP= medial posterior; CuA= cubital anterior; CuP= cubital posterior; CuP&AA= veia anal. * = nome sugerido no presente estudo. A) asa generalizada de Pseudostigmatidae, do gênero *Mecistogaster* (Lencioni, 2017); B) asa generalizada de Calopterygidae, do gênero *Mnesarete* (Lencioni, 2017); C) asa generalizada de Protoneuridae, do gênero *Epipleoneura* (Lencioni, 2017).

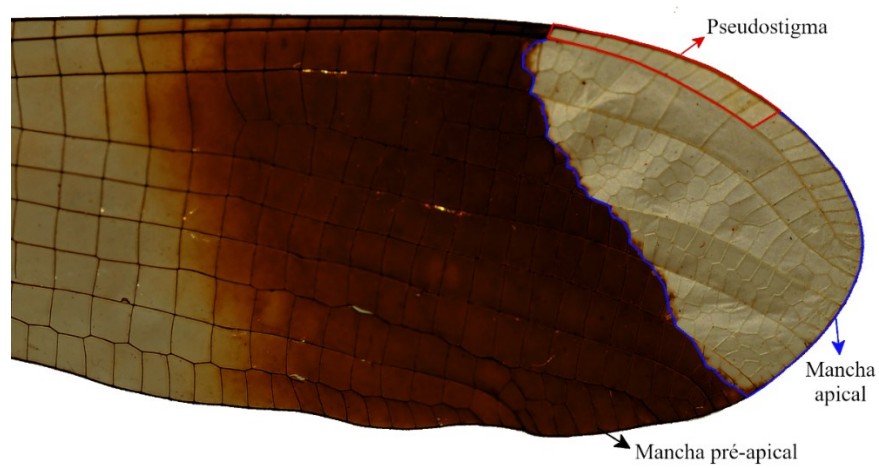


Figura 3. Indicação das principais regiões no ápice da asa, *Platystigma jocaste*, holótipo.

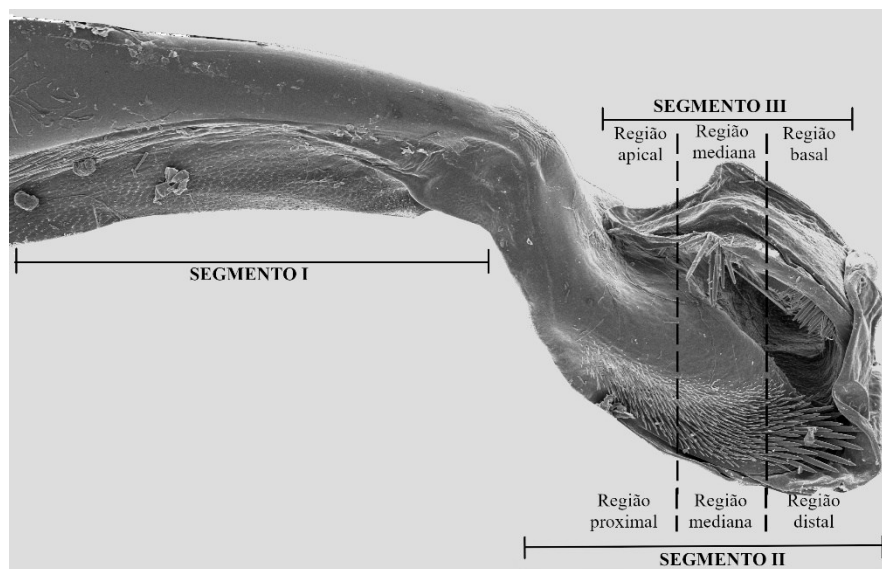
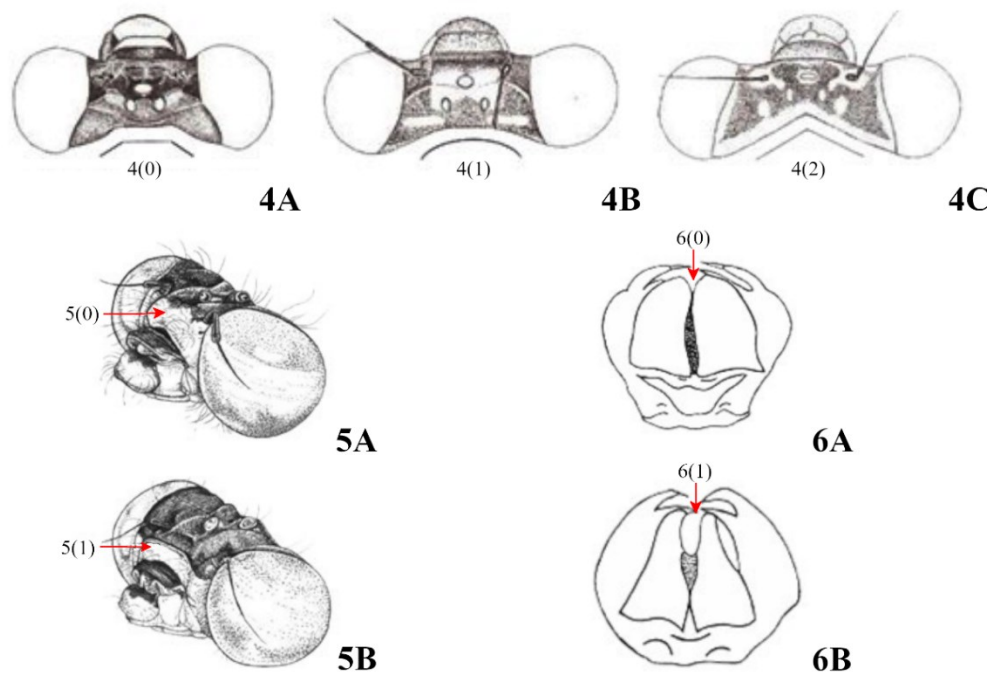
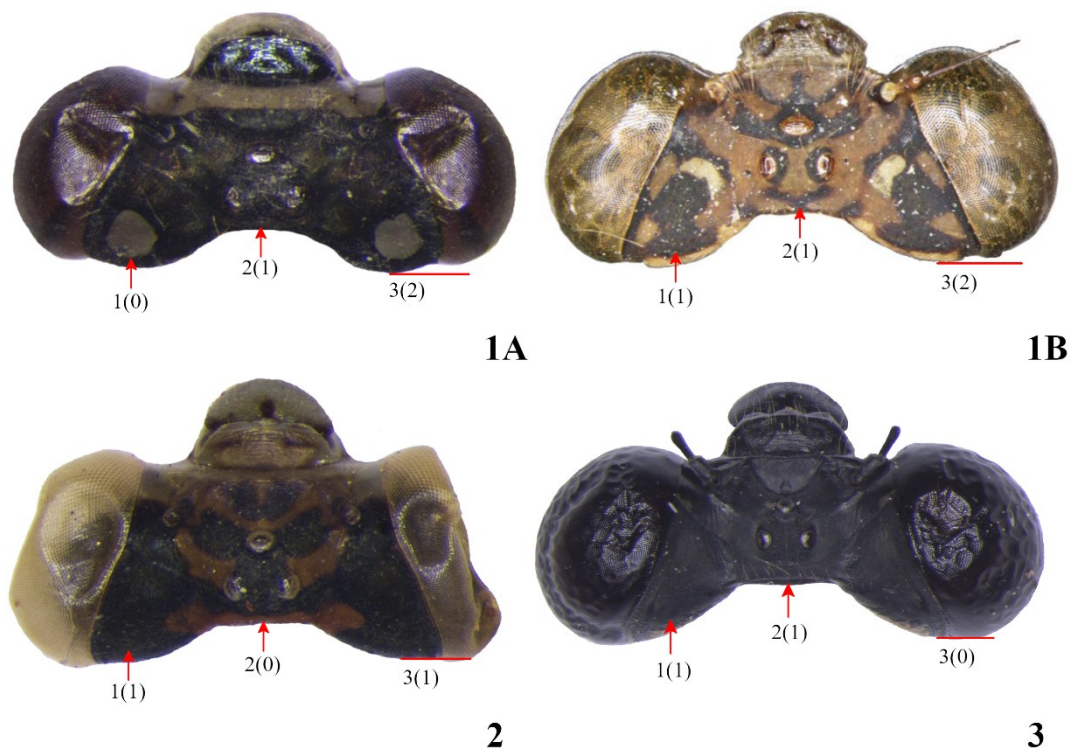


Figura 4. Indicação dos segmentos do pênis e das regiões dos segmentos II e III, vista lateral, *Platystigma buckleyi*.

Anexo 13. Lista de figuras referente à lista de caracteres do Estudo 1 e do Estudo 2. * = caracteres e seus estados referente à lista de caracteres do Estudo 2.

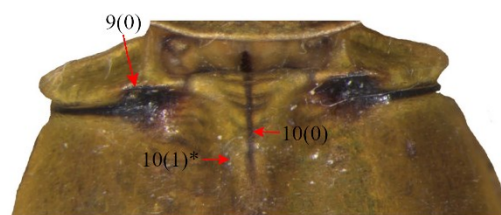


Figuras 4-6. Representação de alguns estados de caracteres, com as setas apontando os estados dos caracteres 4-6 da lista de caracteres do Estudo 1. 4A-C) Cabeça em vista dorsal (modificado de

Garrison *et al.*, 2010); 5A-B) Cabeça em vista laterofrontal (O'Grady & May, 2003); 6A-B) Lábio em vista dorsal (Rehn, 2003).



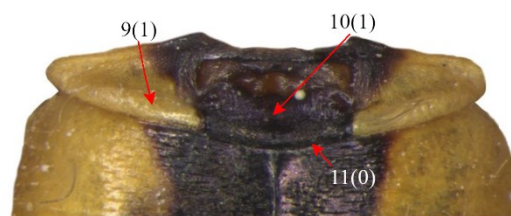
7



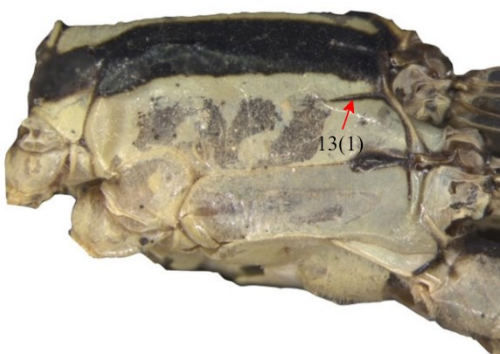
9



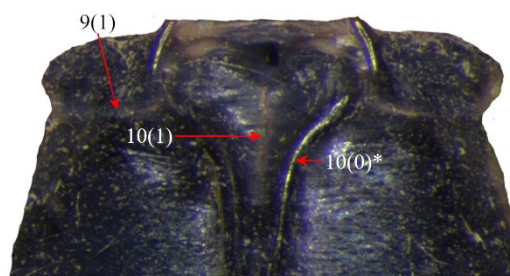
8A



10

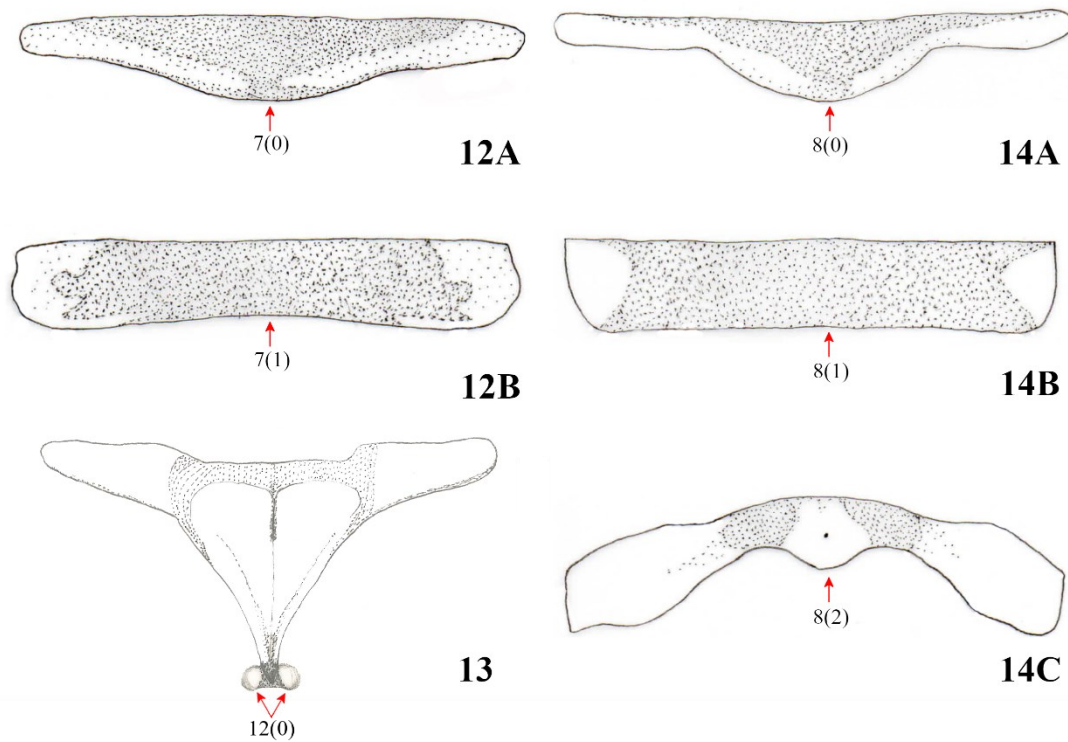


8B



11

Figuras 7-11. Pterotórax do macho em vista lateral e placa mesostigmal da fêmea na região anterior do pterotórax em vista dorsal, com as setas apontando os estados dos caracteres 9-11 e 13 da lista de caracteres do Estudo 1, e 5 e 10 da lista de caracteres do Estudo 2. 7) *Mecistogaster amalia* (Pseudostigmatidae) (Soldati & Machado, 2019); 8A) *Hetaerina rosea* (Calopterygidae), 8B) *Ischnura fluviatilis* (Coenagrionidae); 9) *Ceriagrion melanurum*; 10) *I. fluviatilis*; 11) *Pseudostigma aberrans* (Pseudostigmatidae).



Figuras 12-14. Lobo posterior do protórax e placa mesostigmal em vista dorsal, com as setas apontando os estados dos caracteres 7, 8 e 12 da lista de caracteres do Estudo 1. 12) Lobo posterior do protórax, macho: A) *Neoneura bilinearis*, B) *Mecistogaster milekei* (Soldati & Machado, 2019); 13) Placa mesostigmal, fêmea, *Oxyagrion terminale*; 14) Lobo posterior do protórax, fêmea: A) *Ischnura fluviatilis*, B) *Mecistogaster amalia*, C) *Neoneura sylvatica*.

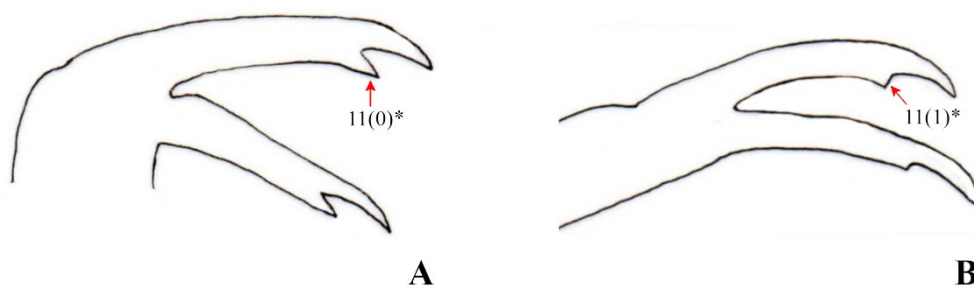
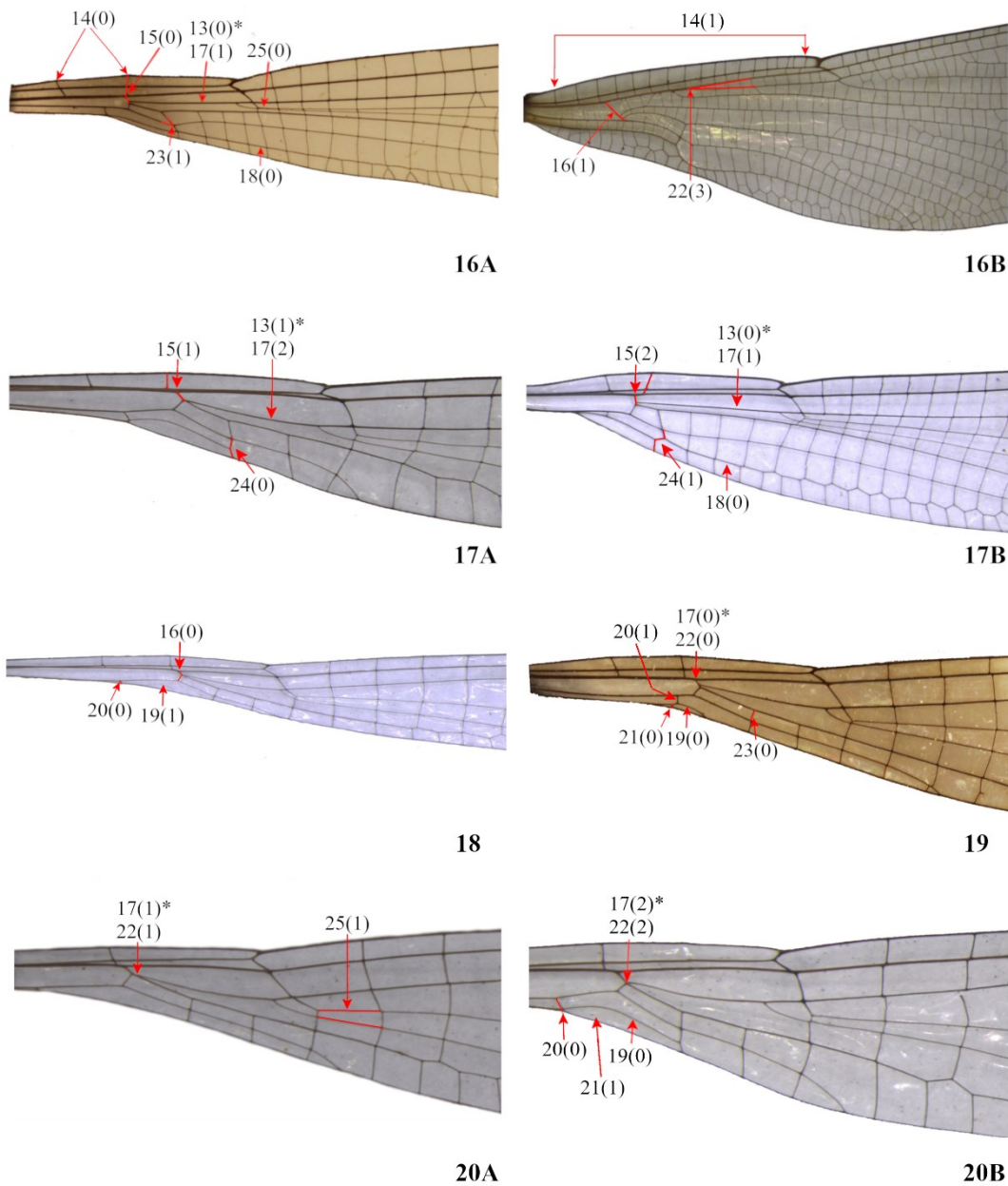
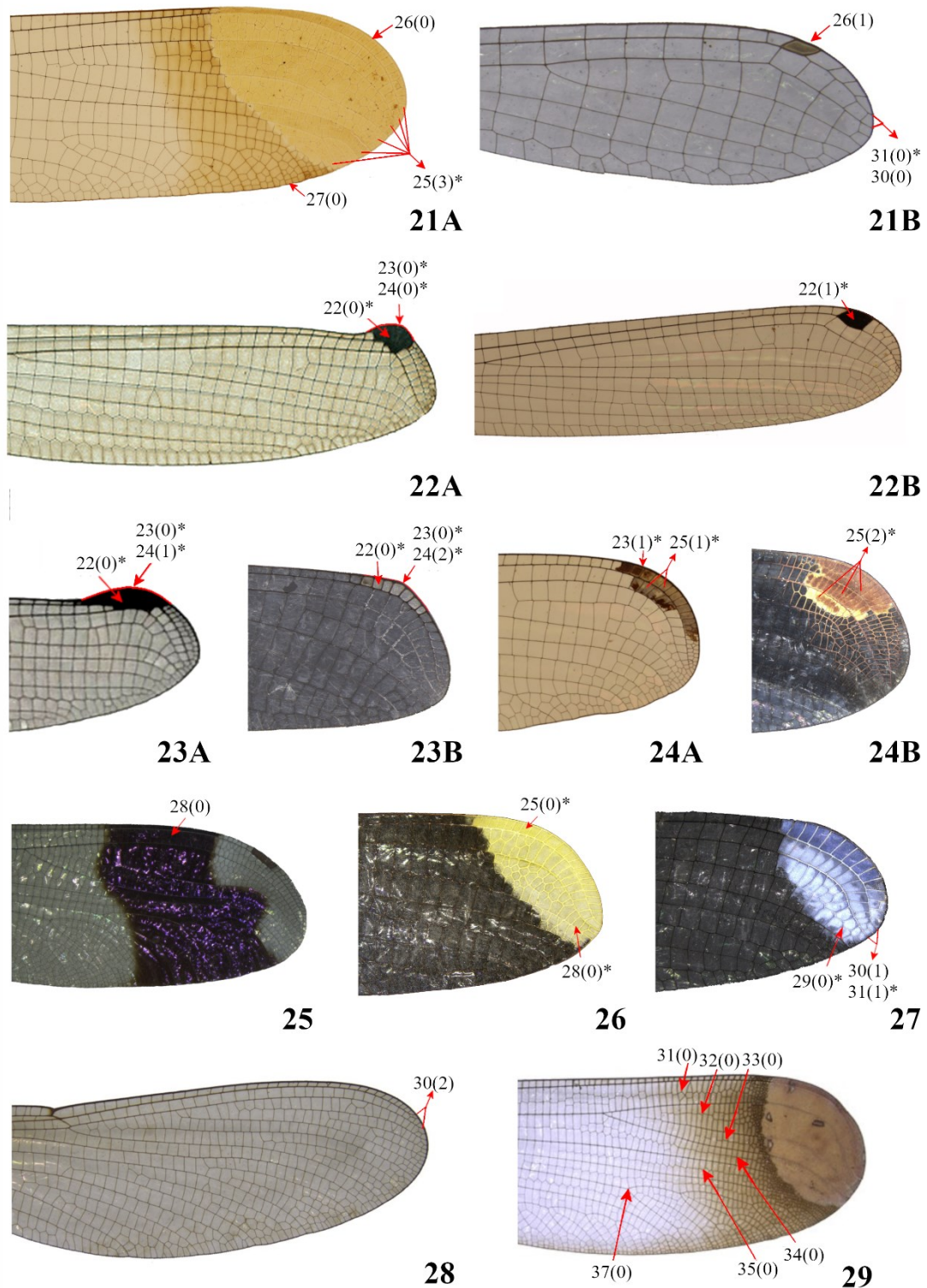


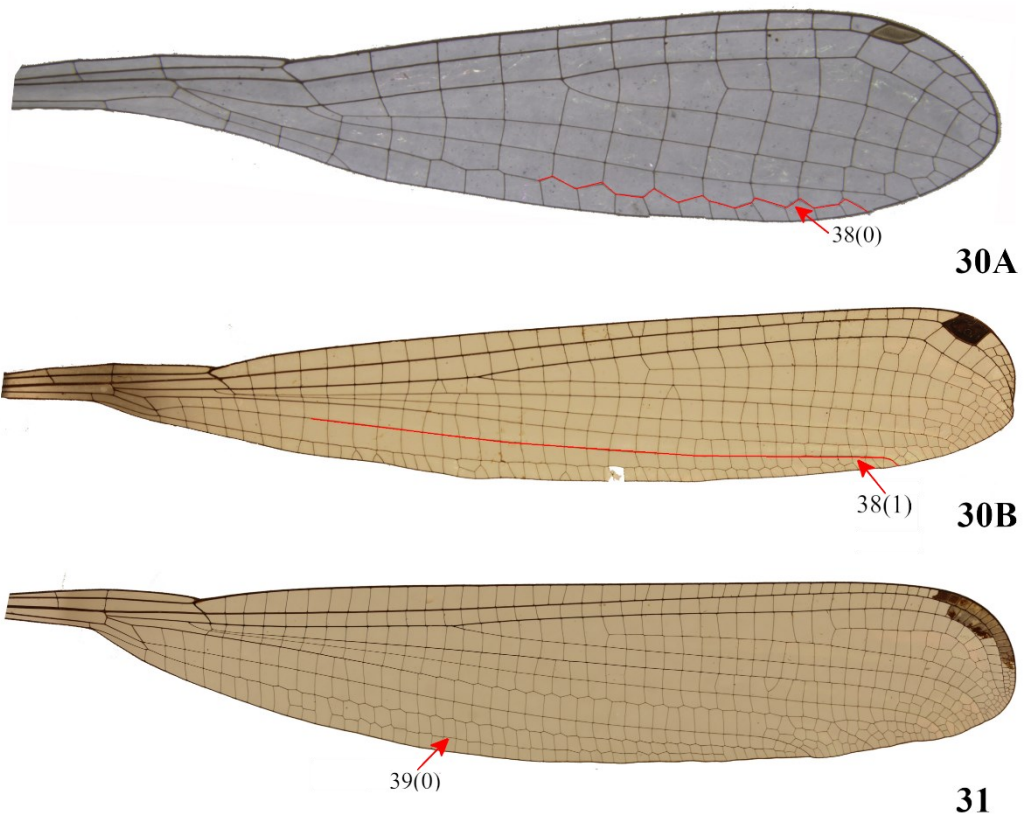
Figura 15. Representação da garra tarsal, com as setas apontando os estados do caráter 11 da lista de caracteres do Estudo 2. A) *Protoneura paucinervis*; B) *Ischnura fluviatilis*.



Figuras 16-20. Região basal da asa, com as setas apontando os estados dos caracteres 13-25 da lista de caracteres do Estudo 1, e 13 e 17 da lista de caracteres do Estudo 2. 16) Asa posterior, fêmea: A) *Coryphagrion grandis*, B) *Mnesarete pudica*; 17) Asa anterior, macho: A) *Neoneura bilinearis*; B) *Mesocnemis singularis*; 18) Asa anterior, macho, *Protoneura paucinervis*; 19) Asa posterior, macho, *Prodasineura vitatta*; 20) Asa posterior, macho: A) *Epipleoneura machadoi*; B) *Neoneura bilinearis*.



Figuras 21-29. Região mediana-apical e apical da asa, com as setas apontando os estados dos caracteres 26-28, 30-37 da lista de caracteres do Estudo 1, e 22-25, 28-29 e 31 da lista de caracteres do Estudo 2. 21) Asa anterior, macho: A) *Anomisma abnorme*, B) *Epipleoneura machadoi*; 22) Asa posterior, macho: A) *Mecistogaster kesselringi* (Soldati & Machado, 2019), B) *Coryphagrion grandis*; 23) Asa posterior, macho: A) *Mecistogaster lucretia*, B) *Platystigma astictum* (Machado e Soldati, 2017); 24) Asa anterior, macho: A) *Pseudostigma aberrans*, B) *Mecistogaster ornata*; 25) Asa posterior, macho, *Megaloprepus caerulatus*; 26) Asa anterior, macho, *Platystigma minimum* (Machado e Soldati, 2017); 27) Asa posterior, macho, *Platystigma humaita* (Machado e Soldati, 2017); 28) Asa posterior, fêmea, *Mnesarete pudica*; 29) Asa anterior, fêmea, *Microstigma rotundatum*.



Figuras 30-31. Asa anterior do macho, com as setas apontando os estados dos caracteres 38 e 39 da lista de caracteres do Estudo 1. 30A) *Epipleoneura machadoi*, 30B) *Coryphagrion grandis*; 31) *Pseudostigma aberrans*.

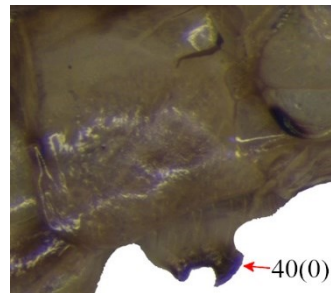
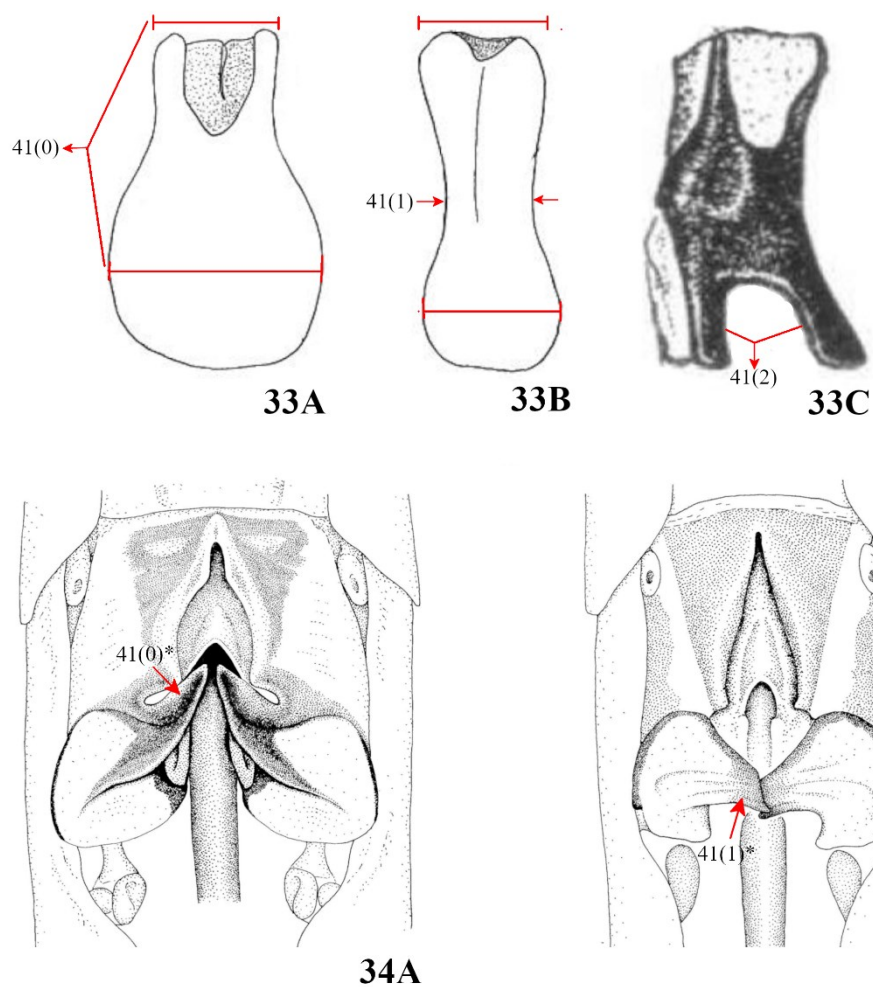
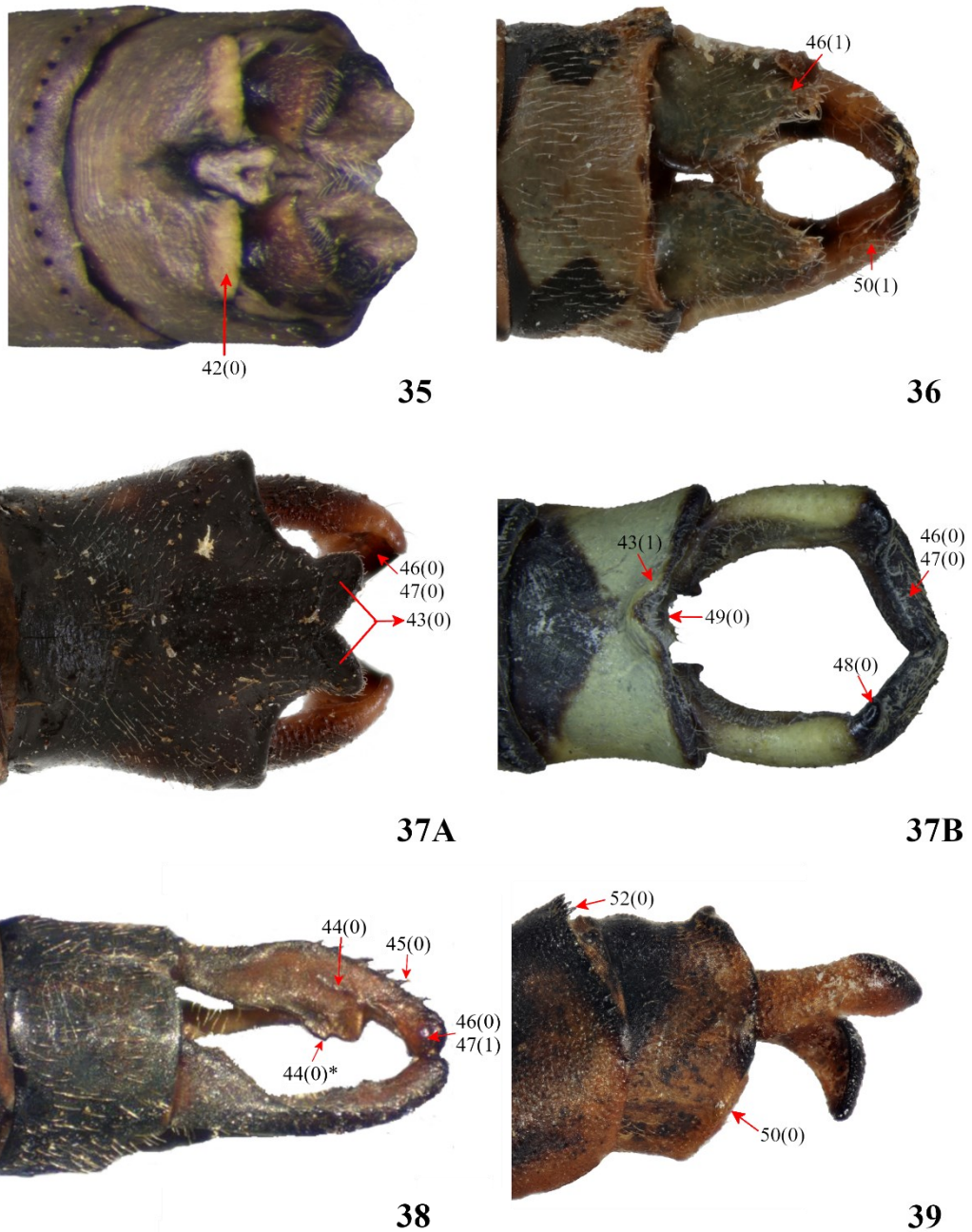


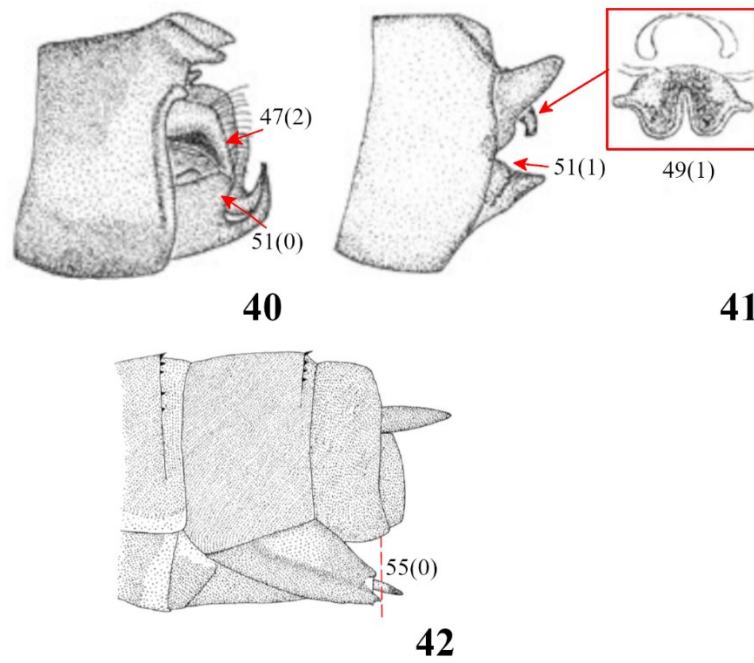
Figura 32. Primeiro segmento do abdômen em vista lateral, *Minagrion caldense* (parátipo), macho. Seta aponta o estado do caráter 40 da lista de caracteres do Estudo 1.



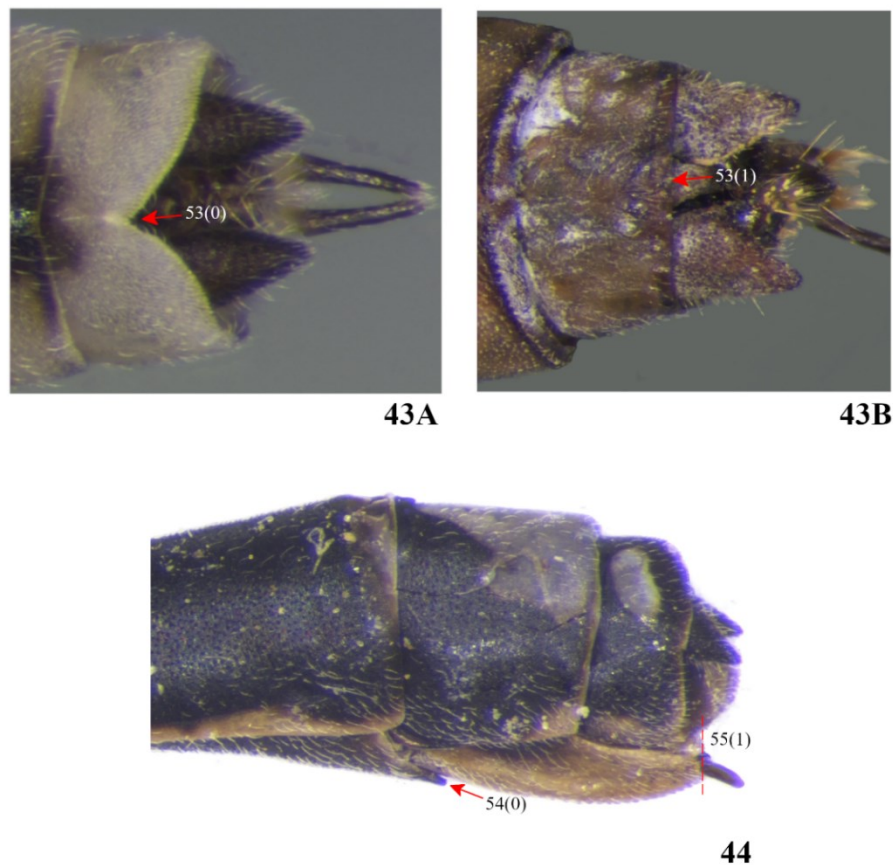
Figuras 33-34. Estruturas da fossa genital do macho, com as setas apontando os estados do caráter 41 das listas de caracteres do Estudo 1 e do Estudo 2. 33) Vesícula seminal na posição antero-posterior, macho: A) *Calopteryx maculata* (Rehn, 2003), B) *Perissolestes magdalenae* (Rehn, 2003), C) *Diceratobasis macrogaster* (modificado de Garrison, 1986); 34) Segundo segmento do abdômen em vista ventral, macho: A) *Mecistogaster amalia*, B) *Mecistogaster mielkei* (Soldati & Machado, 2019).



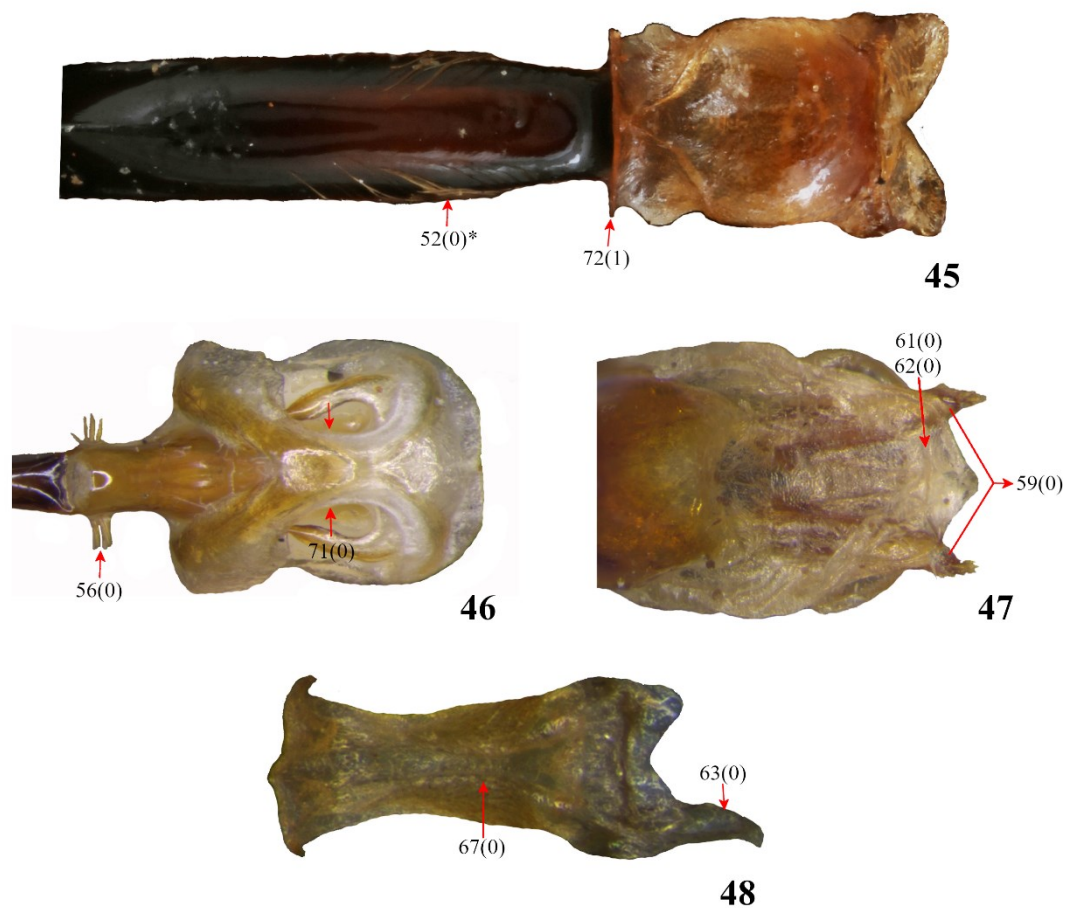
Figuras 35-39. Décimo segmento abdominal e apêndices abdominais do macho, com as setas apontando os estados dos caracteres 42-50 da lista de caracteres do Estudo 1 e 44 da lista de caracteres do Estudo 2. 35) Vista posterodorsal, *Argia nahuana*; 36) Vista dorsal, *Platycnemis pennipes*; 37) Vista dorsal: A) *Pseudostigma aberrans*, B) *Mecistogaster amalia* (Soldati & Machado, 2019); 38) vista laterodorsal, *Hetaerina rosea*, (modificado de Lencioni, 2017); 39) Vista lateral, *Mecistogaster ornata* (síntipo).



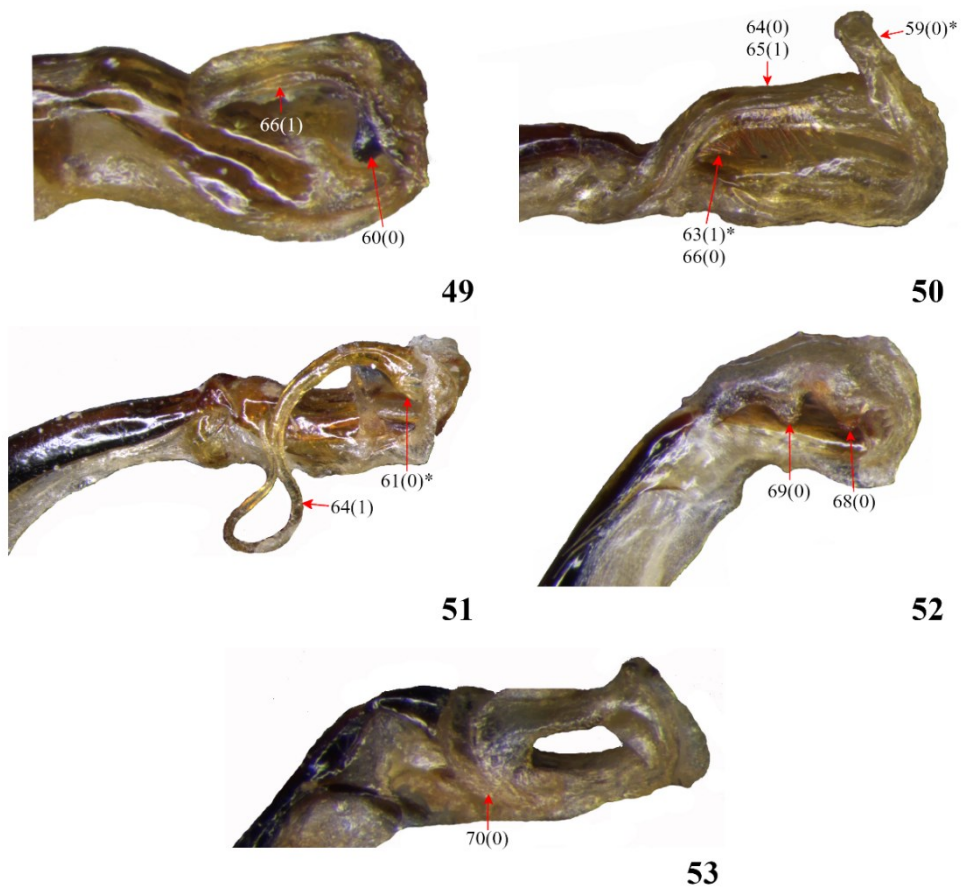
Figuras 40-42. Dóccimo segmento abdominal e apêndices abdominais em vista lateral, com as setas apontando os estados dos caracteres 47, 49 e 51 e a linha tracejada demarcando o limite do estado do caráter 55 da lista de caracteres do Estudo 1. 40) *Ischnura capreolus*, macho (Lencioni, 2017); 41) *Epipleoneura* sp., macho (Lencioni, 2017); 42) *Platystigma astictum*, fêmea (Machado & Soldati, 2017).



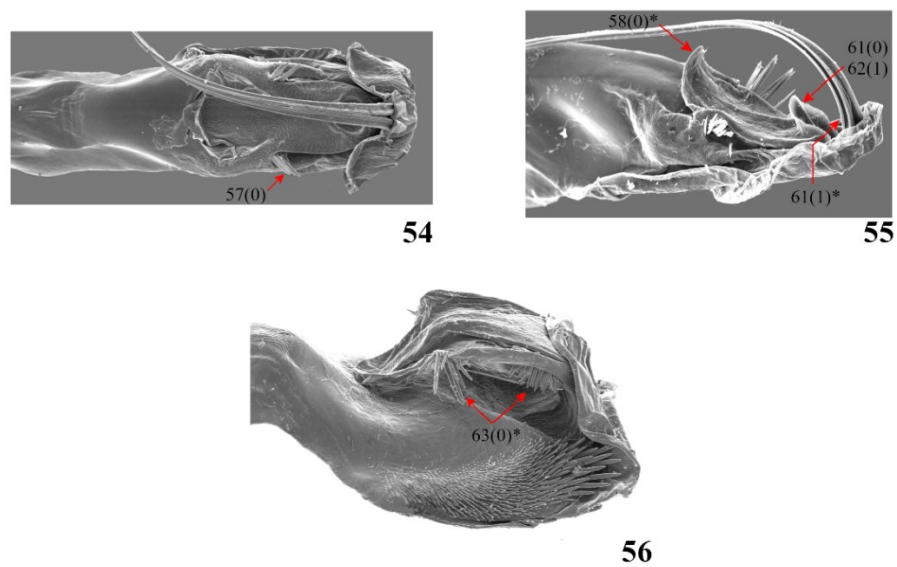
Figuras 43-44. Dóccimo segmento abdominal e apêndices abdominais da fêmea, com as setas apontando os estados dos caracteres 53 e 54 e a linha tracejada demarcando o limite do estado do caráter 55 da lista de caracteres do Estudo 1. 43) Vista dorsal: A) *Epipleoneura venezuelensis*, B) *Megapodagrion megalopus*; 44) Vista lateral, *Franciscobasis franciscoi*.



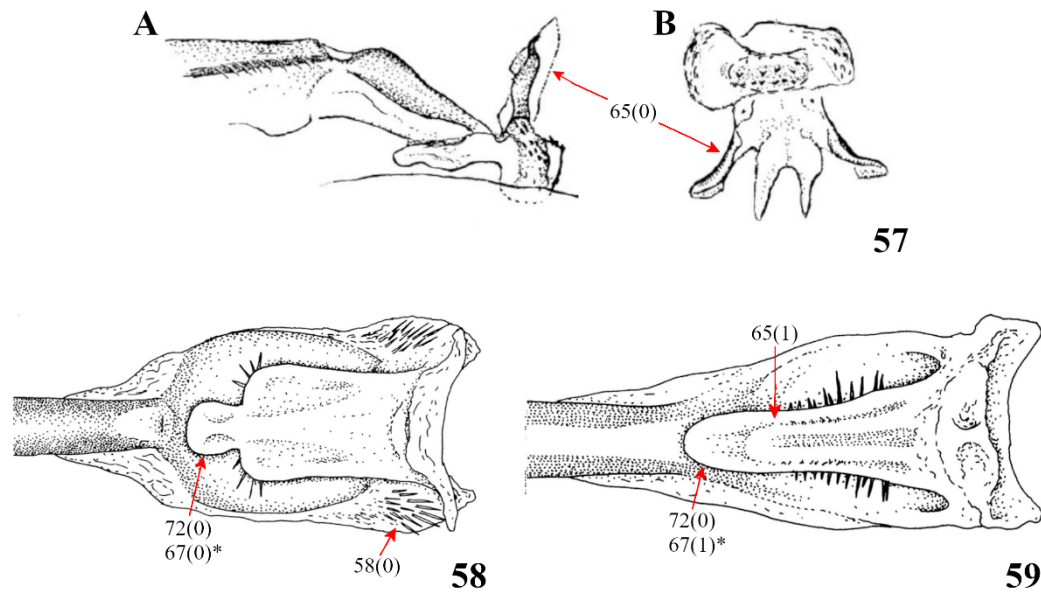
Figuras 45-48. Pênis em vista dorsal, com as setas apontando os estados dos caracteres 56, 59, 62-63, 67, 71-72 da lista de caracteres do Estudo 1, e 52 da lista de caracteres do Estudo 2. 45) Segmentos I, II e III (segmento II não visível), *Coryphagrion grandis*; 46) Segmentos II e III, *Oxyagrion rubidum*; 47) Segmento II, *Mecistogaster mielkei* (Soldati & Machado, 2019); 48) Segmento III, *Epipleoneura machadoi*.



Figuras 49-53. Pênis, com as setas apontando os estados dos caracteres 60, 64-66, 68-70 da lista de caracteres do Estudo 1, e 59, 61 e 63 da lista de caracteres do Estudo 2. 49) Segmentos II e III em vista laterodorsal, *Minagrion caldense*; 50) Segmentos II e III em vista lateral, *Platystigma jocaste*; 51) Segmentos I, II e III em vista laterodorsal, *Megaloprepus caerulatus*; 52) Segmentos I, II e III em vista lateral, *Phoenicagrion flammeum*; 53) Segmentos II e III em vista lateral, *Protoneura paucinervis*.



Figuras 54-56. Pênis, com as setas apontando os estados dos caracteres 57, 61-62 da lista de caracteres do Estudo 1, e 58, 61 e 63 da lista de caracteres do Estudo 2. 54) Segmentos II e III em vista dorsal, *Mecistogaster linearis*; 55) Segmentos II e III em vista laterodorsal, *Mecistogaster lucretia*; 56) Segmentos II e III em vista laterodorsal, *Platystigma buckleyi*.



Figuras 57-59. Pênis, com as setas apontando os estados dos caracteres 58, 65 e 72 da lista de caracteres do Estudo 1, e 67 da lista de caracteres do Estudo 2. 57) *Bromeliagrion rehni* (De Marmels & Garrison, 2005): A) segmentos II e III em vista lateral, B) segmento III em vista dorsal; 58) Segmentos II e III em vista dorsal, *Platystigma humaita* (Machado & Soldati, 2017); 59) Segmentos II e III em vista dorsal, *Platystigma minimum* (Machado & Soldati, 2017).

Anexo 14. Espécies de *Mecistogaster* e *Platystigma* que possuem ninfas e fêmeas descritas, assim como chaves de identificação, com indicação da literatura de referência.

Gênero	Espécie	Ninfa descrita	Fêmea descrita	Chaves de identificação
<i>Mecistogaster</i>	<i>amalia</i>	Muzón <i>et al.</i> , 2010	Soldati & Machado, 2019	Soldati & Machado, 2019; Presente estudo
	<i>linearis</i>	Sahlén & Hedström, 2005	Selys, 1860	Soldati & Machado, 2019; Presente estudo
	<i>lucretia</i>	Não	Selys, 1860	Presente estudo
	<i>modesta</i>	Calvert, 1911	Selys, 1860	Lencioni, 2006; Presente estudo
	<i>ornata</i>	Ramirez, 1995	Selys, 1860	Lencioni, 2006; Presente estudo
<i>Platystigma</i>	<i>astictum</i>	Lencioni, 2006	Selys, 1860	Lencioni, 2006; Machado & Soldati, 2017; Presente estudo
	<i>buckleyi</i>	Não	Não	Machado & Soldati, 2017; Presente estudo
	<i>jocaste</i>	Não	Selys, 1886	Machado & Soldati, 2017; Presente estudo
	<i>martinezi</i>	Não	Machado, 1985; Machado & Soldati, 2017	Machado & Soldati, 2017; Presente estudo
	<i>minimum</i>	Não	Não	Machado & Soldati, 2017; Presente estudo
	<i>pronoti</i>	Não	Sjöstedt, 1918; Machado & Lacerda, 2016	Machado & Soldati, 2017; Presente estudo