

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ – UESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA - PPGZOO



TAXONOMIA INTEGRATIVA NO GÊNERO *Pseudoponera* Emery, 1900
(FORMICIDAE: PONERINAE)

JOÃO PAULO SALES OLIVEIRA CORREIA

ILHÉUS-BAHIA
2014

JOÃO PAULO SALES OLIVEIRA CORREIA

TAXONOMIA INTEGRATIVA NO GÊNERO *Pseudoponera* Emery, 1900
(FORMICIDAE: PONERINAE)

Dissertação apresentada para
obtenção do título de Mestre em
Zoologia à Universidade Estadual de
Santa Cruz.

Área de concentração: Zoologia
Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio
Costa

ILHÉUS-BAHIA

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Correia, João Paulo Sales Oliveira

Taxonomia Integrativa no gênero *Pseudoponera* Emery, 1900 (FORMICIDAE; PONERINAE). / João Paulo Sales Oliveira Correia – Ilhéus, BA:UESC, 2014.

xv,123f.

Orientador: Marco Antonio Costa.

Dissertação (Mestrado) – Universidade estadual de Santa Cruz.

Programa de Pós-graduação em Zoologia.

Palavra-chave: Formigas, *Pseudoponera*, morfologia, citogenética, filogenia molecular.

JOÃO PAULO SALES OLIVEIRA CORREIA

TAXONOMIA INTEGRATIVA NO GÊNERO *Pseudoponera* Emery, 1900
(FORMICIDAE: PONERINAE)

ILHÉUS, 31/10/2014

Dr. Marco Antonio Costa - UESC/ PPGBMG
(Orientador)

Dr. Rogério Rosas Silva – Museu Paraense Emílio Goeldi

Dra. Cinthia Caroline Cardoso Martins – Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia (Embrapa Cenargen)

Dr. Anibal Ramadan Oliveira – UESC/ PPGZoo

À minha família e Thiara Souza que, com muito apoio, não mediu esforços para que eu cumprisse mais esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Marco Antonio Costa, pela orientação, pela amizade e pelo apoio.

Aos Professores Dr. Sébastien Lacau, Dr. Jacques Hubert Charles Delabie e Dr. Cléa dos Santos Ferreira Mariano, pela co-orientação.

À CAPES pelo apoio financeiro através do projeto “A Biossistemática Aplicada ao Estudo das Formigas (Hymenoptera: Formicidae) como Instrumento de Formação e Capacitação em Taxonomia Integrativa”, pelo edital MCT/CNPq/MEX/CAPES Nº 52/2010 – PROTAX – projeto de formação e capacitação em taxonomia e PRONEX SECTI/FAPESB-CNPq PNX011/2009 e FAPESB RED0012/2012.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Santa Cruz, Pós-Graduação de Zoologia, Pós-Graduação de Genética e Biologia Molecular, Centro de Biotecnologia e Genética/ UESC, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira e Laboratório de Biossistemática Animal/ UESB.

Ao Dr. Carlos Roberto F. Brandão pela recepção no Museu de Zoologia de São Paulo.

Aos amigos do Museu de Zoologia da USP, Livia Prado (pelas fotos feitas e pela amizade), Thiago Silva (pela companhia), Gabriel Biffi (pelas fotos feitas) e os demais pela recepção.

Ao pesquisador e curador Lars Vilhemsen, da coleção ZMUC, pelas fotos confeccionadas do holótipo de *Pseudoponera stigma*.

À Itanna Fernandes pelas amostras doadas.

Ao Rodolpho Menezes, Rodrigo Feitosa, Muriel Oliveira, Thales Lavinsky, Yamid Veslaco, Guidomar, Iasmyn e Leony pela ajuda quando necessária.

Aos amigos do Laboratório de Citogenética Animal/UESC, Patrícia, Emanuele, Talisson, Felipe, Rebeca, Joseane e Kátia pelos momentos de descontração.

À Reserva Ecológica Fazenda São Pedro, Pilar - AL e Reserva do Vale do Rio Doce, Sooretama – ES, pelo auxílio nas coletas.

À minha futura noiva Thiara e família por acreditar e incentivar em momentos difíceis.

RESUMO

TAXONOMIA INTEGRATIVA NO *Pseudoponera* Emery, 1900 (FORMICIDAE; PONERINAE)

A história taxonômica de *Pseudoponera* é complexa. Este gênero compreende seis espécies de formigas: *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804), *Pseudoponera succedanea* (Roger, 1863), *Pseudoponera cognata* (Emery, 1896), *Pseudoponera pachynoda* (Clark, 1930), *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960), *Pseudoponera gilloglyi* (Mackay & Mackay, 2010). *Pseudoponera* é exclusivamente encontrada em florestas tropicais e tem distribuição na região Neotropical e nas Ilhas do Oceano Pacífico. O presente estudo apresenta a delimitação de *P. stigma* e *P. gilberti*. Para isso, ferramentas citogenéticas, moleculares e morfológicas serviram para examinar estas duas espécies confundidas por muitos pesquisadores. A análise citogenética demonstra a diferenciação entre as duas espécies, tanto na caracterização numérica, morfológica e no padrão de coloração CMA₃⁺/ DAPI⁻ dos cariótipos. Para as análises filogenéticas, *P. gilberti* e *P. stigma* se agruparam em um clado e seus espécimes oriundos da Mata Atlântica e Floresta Amazônica distinguiram em dois grupos. Da mesma forma, os dados morfológicos também contribuíram para destacar caracteres diagnósticos presentes nas mandíbulas, no clípeo e nos lobos frontais. Por fim, os resultados obtidos neste estudo demonstram a importância da abordagem multidisciplinar para o entendimento de espécies muito próximas. Como uma próxima etapa para a compreensão de todo gênero *Pseudoponera*, sugere-se análises integradas com as demais espécies e um estudo filogeográfico com a finalidade de verificar o processo histórico responsável pela distribuição geográfica atual.

Palavra-chave: *Pseudoponera stigma*, *Pseudoponera gilberti*, morfologia, citogenética, filogenia molecular.

ABSTRACT

TAXONOMY INTEGRATIVE IN THE *Pseudoponera* Emery, 1900 (FORMICIDAE: PONERINAE)

The taxonomic history of *Pseudoponera* is complex. This genus comprises six species of ants: *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804), *Pseudoponera succedanea* (Roger, 1863), *Pseudoponera cognata* (Emery, 1896), *Pseudoponera pachynoda* (Clark, 1930), *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960), *Pseudoponera gilloglyi* (Mackay & Mackay, 2010). *Pseudoponera* is exclusively found in tropical forests and has distribution in the Neotropical region and the islands of the Pacific Ocean. This study presents the delimitation of *P. stigma* and *P. gilberti*. For this, cytogenetic, molecular and morphological tools served to examine these two species confused by many researchers. Cytogenetic analysis shows the differentiation between the two species, both numerically, morphological characterization and staining pattern CMA3⁺/ DAPI⁻ of karyotypes. For phylogenetic analyzes, *P. stigma* and *P. gilberti* were grouped in a clade and its specimens originating from the Atlantic Forest and Amazon Rainforest distinguished into two groups. Similarly, the morphological data also contributed to emphasize diagnostic characters present in the jaws at clypeus and frontal lobes. Finally, the results obtained in this study indicate the importance of the multidisciplinary approach to the understanding of closely related species. As a next step in understanding the whole genre *Pseudoponera*, we suggest integrated analyzes with other species and one phylogeographic study with the aim of verify the historical process responsible for the current geographical distribution.

Keyword: *Pseudoponera stigma*, *Pseudoponera gilberti*, morphology, cytogenetic, molecular phylogeny

LISTA DE IMAGENS

Figura 1: História taxonômica de *Pseudoponera*.

Figura I. 1: Mapa de amostragens das colônias analisadas. Os círculos representam os pontos de coletas.

Figura I. 2: Cariogramas em coloração convencional. (a) e (b): Cariótipos de *P. gilberti* $2n = 12$ e $n = 6$; (c) e (d): Cariótipos de *P. stigma* $2n = 14$ e $n = 7$. Barra = $10 \mu\text{m}$.

Figura I. 3: Cariótipos em coloração sequencial com fluorocromos CMA₃/DAPI. (a) Cromossomos de *P. gilberti*, mostrando banda CMA₃⁺ no primeiro par; (b): Cromossomos de *P. stigma*, indica banda de CMA₃⁺ no quarto par. Barra = $10 \mu\text{m}$.

Figura II. 1: Mapa mostra os locais coletados. Os pontos marrons representam os municípios onde foram realizadas as coletas nos estados de PE=Pernambuco; BA=Bahia, RO=Rondônia; ES=Espirito Santos.

Figura II. 2: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para o gene COI. Os valores de *bootstrap* são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*. MA: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônia.

Figura II. 3: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para o gene 16S rDNA. Os valores de *bootstrap* para 1000 replicações são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*; Clado II: espécimes de *P. stigma*. MA₁ e MA₂: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônia.

Figura II. 4: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para dos dados concatenados. Os valores de *bootstrap* para 1000 replicações são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*; Clado II:

espécimes de *P. stigma*. MA: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônia.

Figura III. 1: A-D: Imagens da operária de *P. stigma* (Brasil: Pará: Belém). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – dorsal; D - lateral. Foto por Muriel Oliveira. (CPDC).

Figura III. 2: A-D: Imagens do holótipo (gine) de *P. stigma* (Guiana: Essequibo). A – cabeça em vista dorsal; B - lateral; C – dorsal; D – etiqueta. Foto por Lars Vilhemsén. (ZMUC).

Figura III. 3: A-D: Imagens da gine de *P. stigma* (Guiana: Essequibo). A – cabeça em vista dorsal; B - lateral; C – dorsal; D – etiqueta. Foto por Lars Vilhemsén. (ZMUC).

Figura III. 4: A-C: Imagens da gine de *P. stigma* (Brasil: Pará: Belém). A – cabeça em vista dorsal; B – lateral; C – dorsal. Foto por Muriel Oliveira. (CPDC).

Figura III. 5: Imagem da asa mesotorácica da gine de *P. stigma* (Brasil: Bahia: Ilhéus). (CPDC).

Figura III. 6: Distribuição dos espécimes analisados de *P. stigma*.

Figura III. 7: A-C: Imagens do holótipo (operária) de *P. gilberti* (Brasil: São Paulo: Agudos). A – cabeça em vista dorsal; B – etiqueta; C – lateral. Foto por Gabriel Biffi. (MZSP).

Figura III. 8: A - D: Imagens da operária de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Ilhéus–Olivença). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – lateral; D – dorsal. (CPDC).

Figura III. 9: A-C: Imagens do parátipo (gine) de *P. gilberti* (Brasil: São Paulo: Agudos). A – cabeça em vista dorsal; B – dorsal; C – lateral. Foto por Livia Prado. (MZSP).

Figura III. 10: A - D: Imagens da gine de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Porto Seguro). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – dorsal; D – lateral. (CPDC).

Figura III. 11: Imagem da asa mesotorácica da gine de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Porto Seguro). (CPDC).

Figura III. 12: Distribuição dos espécimes analisados de *P. gilberti*.

LISTA DE TABELAS

Tabela I. 1: Locais de coleta, espécies, coordenadas geográficas, números de colônias e indivíduos amostrados.

Tabela I. 2: Número cromossômico e fórmula cariotípica das espécies analisadas.

Tabela II. 1: Locais de coleta e coordenadas geográficas.

LISTA DE SIGLAS

CEPLAC: Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira.

CPDC: Centro de Pesquisas do Cacau.

MZSP: Museu de Zoologia de São Paulo.

ZMUC: Museum of Zoology University of Copenhagen, Copenhagen.

LSBA: Laboratório de Biossistemática Animal.

ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO GERAL	16
1. 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1. 1. 1. Subfamília Ponerinae Lepeletier, 1835	18
1. 1. 2. Complexo <i>stigma</i>	19
1. 1. 3. <i>Pseudoponera</i> Emery, 1900.....	20
1. 1. 4. Análise filogenética, baseado nos genes mitocondriais em Formicidae.....	21
1. 1. 4. 2. Filogenia molecular com DNAm em Formicidae	22
1. 1. 5. Estudos Citogenéticos em Formicidae	23
1. 1. 6. Taxonomia Integrativa em Formicidae	25
2. REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO I: ANÁLISE CITOGENÉTICA DE <i>Pseudoponera stigma</i> (Fabricius, 1804) E <i>Pseudoponera gilberti</i> (Kempf, 1960) (FORMICIDAE: PONERINAE): UMA ABORDAGEM CITOTAXONÔMICA.....	36
RESUMO	37
ABSTRACT.....	38
I. 1. INTRODUÇÃO	39
I. 2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
I. 2. 1. Coletas de Material Biológico.....	40
I. 2. 3. Análises citogenéticas.....	41
I. 2. 4. Coloração com fluorocromos CMA ₃ e DAPI	41
I. 3. RESULTADOS	41
I. 3. 1. Coletas de material biológico	41
I. 3. 3. Coloração CMA ₃ / DAPI	44
I. 4. DISCUSSÃO	45
I. 5. REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE <i>Pseudoponera gilberti</i> (Kempf, 1960) E <i>Pseudoponera stigma</i> (Fabricius, 1804) (FORMICIDAE: PONERINAE) POR MEIO DE SEQUÊNCIAS DE GENES MITOCONDRIAIS. 52	
RESUMO	53
ABSTRACT.....	54
II. 1. INTRODUÇÃO	55
II. 2. MATERIAL E MÉTODOS.....	56

II. 2. 1. Locais de coletas e amostragens.....	56
II. 2. 2. Extração e amplificação de DNA	58
II. 2. 3. Purificação e sequenciamentos dos fragmentos de DNA.....	59
II. 2. 4. Alinhamentos das sequências e análise filogenética.....	59
II. 3. RESULTADOS.....	59
II. 3. 1. Análise filogenética baseada no Citocromo Oxidase I (COI)	60
II. 3. 2. Análise filogenética baseada no 16S rDNA	61
II. 3. 3. Análise filogenética dos dados concatenados dos genes COI e 16S DNAr.....	62
II. 4. DISCUSSÃO.....	64
II. 5. REFERÊNCIAS.....	66
CAPÍTULO III: MORFOLOGIA E TAXONOMIA DE <i>Pseudoponera stigma</i> e <i>Pseudoponera gilberti</i> (FORMICIDAE: PONERINAE).....	71
RESUMO	72
ABSTRACT.....	73
III. 1. INTRODUÇÃO	74
III.2. MATERIAIS E MÉTODOS	75
III.2. 1. Material biológico	75
III. 2. 2. Identificação taxonômica	76
III. 2. 3. Descrição morfológica	76
III. 2. 4. Terminologia	76
III.2. 5. Morfometria.....	77
III.2. 6. Iconografia	78
III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
<i>Pseudoponera stigma</i> (Fabricius, 1804)	79
<i>Pseudoponera gilberti</i> (Kempf, 1960)	98
III. 5. REFERÊNCIAS.....	117
3. CONSIDERAÇÕES	FINAIS
.....	122

1. INTRODUÇÃO GERAL

As formigas formam o clado mais derivado dentro da superfamília Vespoidea, sendo todas espécies eusociais (GRIMALDI et al., 2005; MOREAU et al., 2006). Todas as formigas são agrupadas na família Formicidae Latreille, 1809 (Aculeata: Hymenoptera) e formam um grupo grande, diverso e onipresente (RUPPERT et al., 2005).

Elas são encontradas em todos os ecossistemas terrestres e preenchem numerosos nichos, com espécies predadoras, granívoras ou generalistas, ocupando vários lugares nas diversas cadeias tróficas. O maior fator responsável por sua dominância e sucesso ecológico é a plasticidade comportamental e organização eusocial (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; AGOSTI et al., 2000).

Por serem insetos eusociais, as formigas apresentam sobreposição de gerações, cuidado parental e divisão de trabalho, representada hierarquicamente pela rainha e machos (as castas reprodutivas) e operárias (casta estéril) (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990). Os machos são produzidos partenogeneticamente e as fêmeas por reprodução sexuada. Desta forma, as fêmeas são diplóides (originadas por ovos fecundados e possuem cromossomos homólogos) e os machos são originados de ovos não fecundados, sendo então haplóide, sem cromossomos homólogos.

A maior parte dos estudos mirmecológicos é direcionada às espécies de ampla distribuição, carismáticas ou pragas (CAETANO et al., 2002). Deste modo, espécies de formigas que fazem interação com o homem, recebem maior interesse e rendem diversas publicações nas áreas de estudos ecológico, econômico e sanitário (GORDON, et al, 2002).

Existem cerca de 13.000 espécies válidas de formigas, organizadas em 16 subfamílias, 39 tribos e 324 gêneros (BOLTON et al., 2014), que representam mais de 50% da biomassa nas regiões tropicais (WILSON & HÖLLDOBER, 2005). Os estudos taxonômicos de formigas são dinâmicos, porém existem muitas espécies a serem descritas. Atualmente, acredita-se em cerca de 25.000 espécies existentes, sendo a grande parte distribuída nas florestas tropicais (FERNÁNDEZ & OSPINA, 2003; LACH et al., 2010).

Para maioria das espécies de formigas se conhece pouco mais que os registros de distribuição geográfica (DASH, 2011). Muitos táxons necessitam e não são revisados, resultando em taxonomia confusa e biodiversidade mal documentada (DAVIDSON et al., 2003; ARMBRECHT et al., 2004). A maioria dos estudos taxonômicos têm-se direcionado às relações evolutivas de táxons mais elevados (SHATTUCK, 1992; WARD & BRADY, 2003; ASTRUC et al., 2004; BRADY et al., 2006; WARD et al., 2005; 2010), com pouca atenção dedicada particularmente aos gêneros, complexos de espécies, subespécies, espécies crípticas e sinonimizadas.

A identificação e classificação correta de espécies muito semelhantes é um problema para a taxonomia, que implica em uma biodiversidade mal registrada. Com intuito de resolver esta dificuldade, a taxonomia integrativa é definida como a ciência interdisciplinar para delimitação de táxons com taxonomia confusa e erroneamente nomeados (DAYRAT, 2005).

Neste trabalho foi utilizado o conceito de complexo de espécie, que faz referência a um grupo de espécies, que compartilham um largo conjunto de caracteres morfológicos, segundo a formação do complexo *stigma* (MACKAY & MACKAY, 2010). Hoje, a maior parte das espécies desse complexo foi introduzida como *Pseudoponera* (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014).

Dentro desse gênero, *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) apresenta uma descrição antiga e não detalhada, levando a ser confundida com outras espécies do mesmo gênero. Em exemplo, *P. stigma* e *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960) têm sido confundidas por muitos pesquisadores, visto em coleções e artigos publicados.

Portanto, com o objetivo de delimitar *P. stigma* e *P. gilberti*, essas espécies foram avaliadas utilizando ferramentas morfológicas, citogenética e de genética molecular.

1. 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. 1. 1. Subfamília Ponerinae Lepeletier, 1835

Ponerinae é a terceira maior subfamília de formigas, que predomina a região Neotropical, principalmente nas florestas tropicais (BOLTON et al., 2006). Esta subfamília é um grupo basal, devido a seus aspectos morfológicos e comportamentais, como: tamanho pequeno das colônias, casta de operária monomórfica, operárias e rainhas com poucas diferenças morfológicas e forrageamento generalizado (CAETANO et al., 2002). Ela constitui a mais abundante subfamília do grupo poneróide e possui como gênero tipo *Ponera* (BOLTON et al., 2014).

Desde Emery (1911), a subfamília Ponerinae não é objeto de uma revisão taxonômica completa. Recentemente, trabalhos integrativos com dados morfológicos e moleculares tem dado atenção a esta subfamília. A recente revisão de Ponerinae feita por Schmidt & Shattuck (2014) reclassificou quase toda subfamília Ponerinae. E atualmente, esta subfamília é composta por 1152 espécies descritas e 42 gêneros, incluídos nas tribos Platythyreini e Ponerini (BOLTON et al., 2014; SCHIMDT & SHATTUCK, 2014).

A tribo Ponerini Lepeletier, 1835 contém a maior diversidade encontrada em Ponerinae, com 41 gêneros existentes (BOLTON et al., 2014; SCHIMDT & SHATTUCK, 2014). Esta tribo apresenta taxonomia mais complexa que Platythyreini e é formado por gêneros e espécies que necessitam de uma revisão mais apurada (BOLTON, 2003).

Entre os gêneros da tribo Ponerini, *Pachycondyla* Fr. Smith, 1858, era considerado parafilético, com 382 espécies e subespécies distribuídas entre os trópicos e apresentava a maior diversidade morfológica, ecológica e comportamental da subfamília Ponerinae (KELLER, 2011; MARIANO et al., 2012; FERNANDES et al., 2014; SCHIMDT & SHATTUCK, 2014). Emery (1901; 1911) subdividiu *Pachycondyla* em subgêneros. Brown (1973) com intuito de reorganizar este grupo, sinonimizou todos estes subgêneros em *Pachycondyla*, através de uma proposta não justificada. Estes fatores têm

contribuído para gerar dúvidas taxonômicas na tribo Ponerini (DELABIE et al., 2008).

Mackay & Mackay (2010) propuseram a revisão das espécies de *Pachycondyla* neotropicais, baseando-se em caracteres morfológicos. Dividiram o gênero em 18 complexos de espécies. Estes complexos foram formados baseados na grande similaridade morfológica entre as espécies. Hoje, são observados alguns equívocos na formação desses complexos, como mostra o presente trabalho incluindo algumas espécies do complexo *stigma*.

1. 1. 2. Complexo *stigma*

Segundo Mackay & Mackay (2010), o complexo *stigma* é constituído por *Pachycondyla bucki* (Borgmeier, 1927), *Pachycondyla cognata* (Emery, 1896), *Pachycondyla gilberti* (Kempf, 1960), *Pachycondyla lenkoi* Kempf, 1962, *Pachycondyla succedanea* (Roger, 1863), *Pachycondyla stigma* (Fabricius, 1804) e *Pachycondyla gilloglyi* Mackay & Mackay (2010). Características como a quantidade de dentes mandibulares, o formato do clipeo e pecíolo, processo subpeciolar e subpospeciolar e dos olhos são caracteres úteis para diferenciar as espécies do complexo *stigma* (MACKAY & MACKAY, 2010).

Os espécimes de *Pachycondyla gilberti*, *Pachycondyla stigma* e *Pachycondyla succedanea* apresentam seis dentes mandibulares e apresentam uma ampla distribuição sobreposta entre o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. *Pachycondyla cognata*, *Pachycondyla gilloglyi* e *Pachycondyla lenkoi* possuem sete dentes mandibulares e as duas primeiras espécies ocorrem sobreposta na Costa Rica (MACKAY & MACKAY, 2010). Além de *Pachycondyla bucki*, que por algum motivo não foi comparada com as espécies do complexo.

Recentemente, a subfamília Ponerinae foi revisada e *Pachycondyla* foi subdividido em 19 gêneros. A maior parte das espécies do complexo *stigma* foi realocada para o gênero *Pseudoponera* Emery, 1900, que inclui *Pseudoponera cognata*, *Pseudoponera gilberti*, *Pseudoponera gilloglyi*, *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera succedanea*, excluindo *Pachycondyla bucki* e *Pachycondyla lenkoi* e adicionando *Pseudoponera pachynoda* (Clark, 1930) (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014).

1. 1. 3. *Pseudoponera* Emery, 1900

Pseudoponera sofreu várias alterações (BOLTON et al., 2014) e muitas dessas designações não foram justificadas (EMERY, 1911). A história taxonômica simplificada desse gênero segue abaixo:

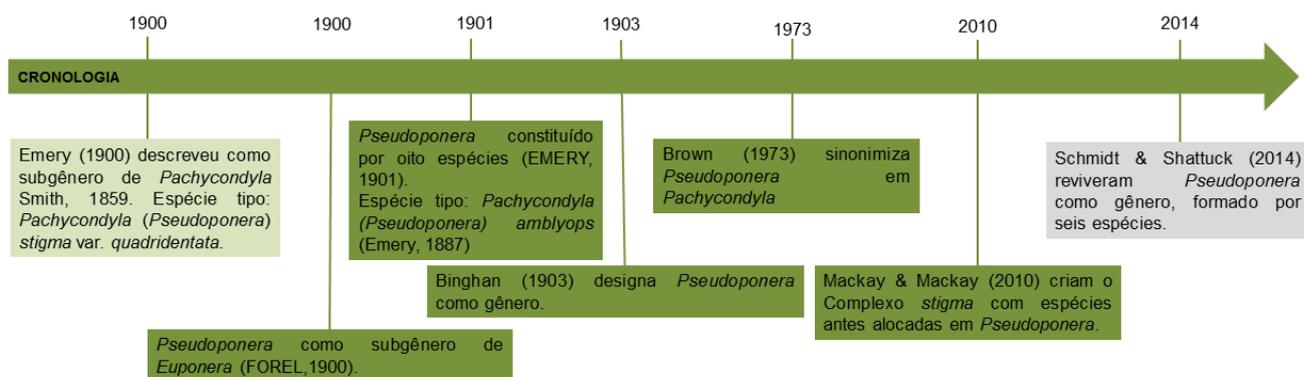


Figura 1: História taxonômica de *Pseudoponera*.

Além dos dados apresentados na cronologia acima, Emery (1911) descreveu *Trachymesopus* como subgênero de *Euponera*, com espécie tipo *P. stigma*, formando o grupo *stigma* com seis espécies, que incluía *P. cognata*, *P. stigma* (com seus sinônimos) e *P. succedanea*. Bolton (1995), sinonimizou *Trachymesopus* como sinônimo júnior de *Pseudoponera*, devido à sinonimização das respectivas espécies tipo.

Atualmente, *Pseudoponera* é constituído por seis espécies encontradas em florestas úmidas, tendo como espécie-tipo *P. stigma*. (SCHIMDT & SHATTUCK, 2010). O gênero ocorre em regiões tropicais do Velho ao Novo Mundo, desde América Latina a Austrália. Dentro do gênero, *P. stigma* apresenta ampla distribuição geográfica e, possivelmente, dispersa para Ásia e Pacífico através da ação humana (WETTERER, 2012).

Em uma breve descrição, Schmidt & Shattuck (2014) indicaram um conjunto de caracteres para definir *Pseudoponera*. As operárias apresentam mandíbulas triangulares, com cerca de 5-10 dentes e margem anterior do clípeo amplamente convexa. Olhos são diminutos e localizados ântero-lateralmente. Propódeo é estreito dorsalmente e com espiráculo elíptico e alongado. Gáster não apresenta órgão estridulatório. Cabeça e corpo são cobertos por pontuações finas, mesosoma com estrias, e pilosidade e

pubescências abundantes. O corpo apresenta coloração marrom ferrugem escuro. Gines são semelhantes às operárias, com ocelos e modificações dos escleritos torácicos típicos de gines da subfamília Ponerinae.

Os mesmos autores comentaram a falta de autapomorfias de operárias e uma grande semelhança de *Pseudoponera* com os gêneros *Austroponera*, *Cryptopone*, *Euponera*, *Hypoponera*, *Mesoponera* e *Rasopone*. Por outro lado, foram indicadas diferenças entre estes gêneros, *Pseudoponera* é distinta de *Austroponera* pelo formato dos espiráculos propodeais; de *Euponera* pela ausência de uma cova basal na mandíbula; de *Cryptopone* pela presença de olhos, falta da cova basal na mandíbula e ausência de cerdas alogadas metatibiais; de *Hypoponera* pela presença de duas esporas metatibiais; de *Mesoponera* pelo tamanho corpóreo, dos lobos frontais e dos olhos, pela pilosidade mais densa e propódeo mais amplo; de *Rasopone* pelo formato dos espiráculos propodeais (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014).

Pseudoponera possui poucos estudos sobre sua biologia. As espécies apresentam corpo de tamanho relativamente pequeno, são de hábitos crípticos e são predadores generalistas (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014). Colônias de *P. stigma* são pequenas e nidificam em troncos de árvores apodrecidos (WILSON, 1958; WILD, 2002; WETTERER, 2012; LONGINO, 2013). No Brasil, foram registradas colônias contendo 80 operárias e várias gines aladas (OLIVEIRA et al., 1998).

Moreau & Bell (2013) e Schmidt (2013) sugeriram os únicos estudos de filogenia molecular com espécies de *Pseudoponera*. No estudo de Schmidt (2013) foi incluído somente *P. stigma* e *P. gilloglyi*, formando um clado que se apresentou como grupo irmão de *Austroponera castanea* (Mayr, 1865).

1. 1. 4. Análise filogenética, baseado nos genes mitocondriais em Formicidae.

1. 1. 4. 1. DNA mitocondrial (DNAmt)

O DNA mitocondrial de animais multicelulares apresenta características que o tornam útil no estudo da evolução molecular: pequeno tamanho, a natureza haplóide e a herança predominante materna que elimina as variações

biparentais (MATIOLI & FERNANDES, 2012). A origem materna e o alto grau de polimorfismo fazem dessa molécula um importante instrumento na análise de populações (AVISE & LANSMAN, 1983).

Geralmente, o DNAm animal é uma molécula circular fechada, cujo o tamanho varia de 15,7 a 19,5 kilobases (kb) (MATIOLI & FERNANDES, 2012). É composto de cerca de 37 genes, sendo que 22 genes codificam para RNAs transportadores, dois genes codificam para RNAs ribossômicos e 13 genes codificam para proteínas envolvidas no transporte de elétrons e na fosforilação oxidativa (AVISE, 1994). Frequentemente, a replicação no DNAm é unidirecional, assimétrica (ATTARDI, 1985) e conhecida como uma região rica em A+T (Adenina e Timina) em insetos (FAURON & WOLSTENHOLME, 1980).

O DNAm tem sido intensamente estudado, pois é facilmente isolado e purificado quando comparado ao DNA nuclear, além de ter maior densidade, grande número de cópias na células e estar localizado dentro da mitocôndria (HOY, 1994).

1. 1. 4. 2. Filogenia molecular com DNAm em Formicidae

Atualmente, a utilização de ferramentas moleculares vem auxiliando a taxonomia de formigas (WARD, 2007). Assim, o uso de sequenciamento de DNA surgiu para aperfeiçoar e modificar inferências anteriores sobre a filogenia de formigas (WARD & BRADY, 2003; MOREAU et al. 2006). Alguns genes frequentemente usados são Citocromo Oxidase I (COI), 16S DNAr e 12S DNAr (CATERINO & SPERLING, 2000; MATIOLI & FERNANDES, 2012).

As análises filogenéticas com o gene mitocondrial COI são amplamente utilizadas em estudos com insetos (JINBO et al, 2011), principalmente, por este gene ser a base do DNA *barcoding*. Esse gene tem sido útil para delimitação de espécies do mesmo gênero (ROSS & SHOEMAKER, 2005; SMITH et al., 2005;; WILL et al., 2005; PADIAL & DE LA RIVA, 2007; WHITWORTH et al., 2007). Segundo Hebert et al. (2004), existem algumas controvérsias sobre a utilização desse gene para observar relações de táxons de níveis mais elevados.

Por outro lado, o gene 16S DNAr é frequentemente utilizado junto com caracteres morfológicos em análises filogenéticas, com a finalidade de resolver

relações entre grupos de insetos (DOWTON, 2001; ASTRUC et al., 2004). Esse gene tem sido útil para análise entre famílias e gêneros da ordem Hymenoptera (DOWTON & AUSTIN, 1998; DOWTON, 2001).

A concatenação desses dois genes mitocondriais é amplamente utilizada em estudos filogenéticos e tem sido usado para análise em diversos níveis taxonômicos (ASTRUC et al., 2004; DOWTON & AUSTIN, 1998; DOWTON, 2001; KJER et al., 2006).

Dentre os estudos com filogenia molecular de formigas, é possível destacar algumas pesquisas, como: utilização de DNAm para analisar espécies do complexo *Myrmecia pilosula* (CROZIER et al., 1995); reconstrução da filogenia de *Azteca* baseado em dois genes mitocondriais (AYALA et al., 1996); investigação da história filogenética de 19 subfamílias de formigas, usando cinco genes nucleares e um gene mitocondrial (MOREAU et al., 2006); delimitação de espécies do complexo *Tetramorium caespitum* e *Tetramorium impurum* através de análise filogenética com genes do mtDNAs e dados morfológicos (SCHLICK-STEINER et al., 2006); reconstrução filogenética baseado em genes mitocondriais e nucleares do gênero *Atta* (BACCI et al. 2009); microssatélites para auxiliar a delimitação de espécies crípticas do grupo *Formica rufa* (BERNACONI et al., 2011); construção da filogenia molecular do gênero *Cataglyphis* por meio de DNAm (KNADEN et al., 2012).

Os únicos estudos filogenéticos com espécies de *Pseudoponera* foram desenvolvidos por meio de genes nucleares, com objetivo de resolver relações de táxons mais superiores (MOREAU & BELL, 2013; SCHMIDT, 2013).

1. 1. 5. Estudos Citogenéticos em Formicidae

Há mais de cem anos, os estudos citogenéticos vêm sendo usados para caracterizar e delimitar unidades taxonômicas (GUERRA, 1988; GROZEVA et al., 2004; MARIANO, 2004).

Investigações sobre evolução cariotípica em Hymenoptera têm recebido atenção especial nos trabalhos de Imai et al. (1977; 1986; 1988). Segundo estes autores, a evolução do cariótipo tem a tendência de aumentar o número cromossômico, seguido pela diminuição do tamanho dos cromossomos. Imai et al. (1986) propôs o modelo para evolução do cariótipo nos eucariotos, que foi

chamada de hipótese da Interação Mínima. Esta hipótese implica que os cariótipos tendem a se desenvolver no sentido de minimizar os riscos genéticos resultantes de mutações cromossômicas deletérias, como as translocações recíprocas. Estas translocações são mais frequentes em cariótipos com baixos números cromossômicos e menos frequentes em cariótipos com números elevados. Estes processos foram interpretados como a maior interação ocorrida entre os cromossomos em cariótipos com números baixos, onde estes tendem ser maiores. A hipótese sugere que rearranjos que levam à diminuição do tamanho dos cromossomos, como a fissão cêntrica, seriam mais adaptativos, reduzindo estas interações. Portanto, cariótipos mais numerosos tenderiam a ter cromossomos menores e maior quantidade de cromossomos telocêntricos e acrocêntricos resultantes das fissões. Essas fissões cêntricas se caracterizam por converter cromossomos meta e submetacêntricos em telocêntricos menores, os quais podem ser convertidos em meta e submetacêntricos por inversão pericêntrica ou por adição de heterocromatina (IMAI et al., 1988)

Investigações sobre evolução cariotípica em Formicidae têm recebido especial atenção (CROSLAND & CROZIER, 1986; BARROS et al., 2008; SANTOS et al. 2010; 2012; MARIANO et al., 2012). Portanto, com a variação cariotípica é possível inferir sobre diferenciação entre táxons (graus de parentesco (GUERRA, 1988; MARIANO, 2004) e posição filogenética dos táxons estudados (SANTOS et al., 2010).

A citotaxonomia é amplamente utilizada em pesquisas que envolvem evolução e filogenia da família Formicidae, principalmente do grupo Ponerinae. Até o momento, o destaque principal tem sido a citogenética clássica que se caracteriza pela observação do número e da morfologia dos cromossomos mitóticos (MARIANO et al., 2012).

Assim, a citotaxonomia vem se destacando e é um instrumento importante para a compreensão de unidades taxonômicas, como espécies muito semelhantes morfologicamente (SOUZA et al., 2011; DELABIE et al., 2008; MARIANO et al., 2008; SANTOS et al., 2010; MARIANO et al., 2012).

Variações em dados citogenéticos com padrões de bandas de coloração com fluorocromos base-específicos a cromomicina A (CMA₃) e o 4',6-diamido-2-fenilinol (DAPI) foram observados em *Anochetus* e *Odontomachus* (SANTOS

et al., 2010), *Mycocepurus goeldii* (BARROS et al., 2010), *Azteca* (CARDOSO et al., 2012) e *Acromyrmex* e *Atta* (CRISTIANO et al., 2013).

Estudos citogenéticos com formigas têm sido informativos. O grupo Formicidae mostra uma grande diversidade de cariótipos. Seus extremos são as espécies *Myrmecia croslandi* Taylor com $2n=2$ e *Dinoponera lucida* Emery com $2n=120$ (CROSLAND; CROZIER 1986; MARIANO et al, 2008). Uma grande variação pode ser encontrada dentro de um mesmo gênero, como na antiga formação de *Pachycondyla* com cariótipos $2n=12-104$ (ver LORITE & PALOMEQUE, 2010) ou ainda em complexos de espécies como em *Myrmecia pilosula* com cinco cariótipos distintos que variam entre $2n=2$ a $2n=32$ (IMAI, 1988).

Atualmente, existem estudos citogenéticos de 95 morfoespécies em Ponerinae (LORITE & PALOMEQUE, 2010; MARIANO et al., 2012). Para o gênero *Pseudoponera* foi realizado com espécies anteriormente alocadas no gênero *Pachycondyla* (MARIANO et al., 2012), utilizando a técnica de coloração convencional. Foram encontradas as fórmulas cariotípicas $2K = 10 + 2A$ para *Pseudoponera gilberti*, $2K = 12M$ para *Pseudoponera stigma* e $2K = 14M$ para *Pseudoponera succedanea*. Estas espécies exibiram cariótipos com baixo número de cromossomos e com alta frequência de cromossomos metacêntricos.

1. 1. 6. Taxonomia Integrativa em Formicidae

A taxonomia tem o papel de identificação e classificação claramente e eficientemente dos táxons, sendo base para diferentes ciências (DAYRAT, 2005). Atualmente, vários cientistas apontam que a taxonomia está enfrentando uma crise e necessita ser renovada (WILSON, 2004; WHEELER, RAVEN & WILSON, 2004). A ausência da interação de disciplinas indispensáveis para delimitação das espécies é o principal motivo para o surgimento dessa crise (GODFRAY, 2002). Para resolver este problema, a taxonomia se torna integrativa, e esta integração envolve ferramentas interdisciplinares e complementares (DAYRAT, 2005; PIRES & MARINONI, 2010).

Nos últimos 30 anos, pesquisas com espécies muito semelhantes vem aumentando exponencialmente, este grande aumento, principalmente, é devido à integração de dados morfológicos com sequências de DNA (DOWTON, & AUSTIN, 1998; BICKFORD, 2007).

Atualmente, a taxonomia integrativa tem sido usada para delimitação de espécies de formigas. Análises filogenéticas a partir de genes nucleares e mitocondriais (SCHLICK-STEINER et. al., 2006; SCHMIDT & SHATTUCK, 2014) e citogenética (MARIANO et al., 2008; 2012; CRISTIANO et al., 2013; VELASCO et al., 2014) integrados aos dados morfológicos são eficazes para identificação e classificação de espécies.

2. REFERÊNCIAS

- AGOSTI, D.; MAJER, J. D. & ALONSO, L. E. Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity. **Smithsonian Institution Press. Washington DC**, 280. 2000.
- ARMBRECHT, I. I.; & VANDERMEER, J. Enigmatic biodiversity correlations: ant diversity responds to diverse resources. **Science**, 304: 284–286. 2004.
- ASTRUC, C.; JULIEN, J.F.; ERRARD, C.; LENOIR, A. Phylogeny of ants based on morphology and DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 31: 880-893. 2004.
- ATTARDI, G. Animal mitochondrial DNA: An extreme example of genetic economy. **Int. Rev. Cytot.** 93: 93-145. 1985.
- AVISE, J. C.; LANSMAN, R. A. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals. **Evolution of genes and proteins**, v. 8, n. 5, p. 147-164, 1983.
- AVISE, J. C. Molecular Markers, Natural History and Evolution: Natural History and Evolution. **Springer**, 1994.
- AYALA, F.J., WETTERER, J.K., LONGINO, J.T., HARTL, D.L. Molecular phylogeny of Azteca ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of Cecropia trees. **Mol. Phylogenet. Evol.** 5, 423–428. 1996.
- BACCI, M.; SOLOMON, S. E.; MUELLER, U. G.; MARTINS, V. G.; CARVALHO, A. O. R.; VIEIRA, L. G. E.; SILVA-PINHATI, A. C. O. Phylogeny of leafcutter ants in the genus *Atta* Fabricius (Formicidae: Attini) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 51:427-437. 2009.
- BARROS, L. A. C.; AGUIAR, H. J. A. C. de; MARIANO, C. dos S. F.; DELABIE, J. H. Ch. Cytogenetic Characterization of the Lower-Attine *Mycocepurus goeldii* (Formicidae: Myrmicinae: Attini). **Sociobiology**, vol. 56, n° 1: 57-67. 2010.
- BERNASCONI, C.; CHERIX, D.; SEIFERT, B. & PAMILO, P. Molecular taxonomy of the *Formica rufa* group (red wood ants) (Hymenoptera:

- Formicidae): a new cryptic species in the Swiss Alps? **Myrmecological News**, 14: 37-47. 2011.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; NG, P. K. MEIER, R.; WINKER, K., das, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution** 22 (3): 148-155. 2007.
- BORGMEIER, T. O. F. M. Algumas novas formigas brasileiras. **Archivos do Museu Nacional**, vol. XXIX: 9. 1927.
- BOLTON, B.. A New General catalogue of the Ants of the World. **Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts**. 504 pp. 1995.
- BOLTON, B. Synopsis and classification of Formicidae. **Memoirs of the American Entomological Institute**, 71: 1-370. 2003.
- BOLTON, B.; ALPERT G.; WARD, P. S.; NASKRECKI, P. Catalogue of Ants of the World: 1758-2005. 2006. CD-ROM. **Cambridge, Harvard University Press**. 2006.
- BOLTON, B. & G.D. ALPERT. —**Barry Bolton's Synopsis of the Formicidae and Catalogue of Ants of the World**, Version 1 outubro 2014, <http://gap.entclub.org/>. 2014.
- BRADY, S. G.; SCHULTZ, T. R.; FISHER, L. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proceedings of the National Academy of Science*, 103(45): 00–001. 2006.
- BROWN, W. L., Jr. Remarks on the internal phylogeny and subfamily classification of the family Formicidae. **Insects Sociaux**, 1: 21-31. 1954.
- BROWN, W. L. Jr. a Comparison of the Hylean and Congo-West African Rain Forest Ant Faunas. **Smithsonian Institution Press**, 161-185. 1973.
- BROWN, W. L., Jr. [Untitled. Taxonomic changes in *Pachycondyla* attributed to Brown.]. Pp. 302-311 in: Bolton, B. 1995b. A new general catalogue of the ants of the world. **Cambridge, Mass.: Harvard University Press**, 504 pp. 1995.
- CAETANO, F. H.; JAFFÉ, K.; ZARA, F. J. **Formigas: Biologia e Anatomia**. Araras S. P., Gráfica e Editora Topacio, 131. 2002.
- CARDOSO, D. Cl.; CRISTIANO, M. P.; BARROS, L. A. C.; LOPES, D. M.; POMPOLO, S. das G. First cytogenetics characterization of a species of the arboreal ant genus *Azteca* Forel, 1978 (Dolichoderinae, Formicidae). **Comparative Cytogenetics** 6 (2): 107 -114. 2012.

- CATERINO, M. S.; CHO, S.; SPERLING, F. A. H. The current state of insect molecular systematics: a thriving tower of Babel. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 1-45. 2000.
- CLARK, J. New Formicidae, with notes on some littler-known species. **Proceedings of the Royal society of Victoria** 43: 2-25. 1930.
- CRISTIANO, M. P.; CARDOSO, D. CI.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Cytogenetic and Molecular Analyses Reveal a Divergence between *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) and Other Congeneric Species: Taxonomic Implications. **Plos one**, 8 (3): 1- 9. 2013.
- CROSLAND, M. W. J. & CROZIER, R. H. *Myrmecia pilolusa*, an ant with only one pair of chromosomes. **Science** 231: 1278. 1986.
- CROZIER, R.H.; DOBRIC, N.; IMAI, H.T.; GRAUR, D.; CORNUET, J.-M.; TAYLOR, R.W.; Mitochondrial-DNA sequence evidence on the phylogeny of Australian jack-jumper ants of the *Myrmecia pilosula* complex. **Mol. Phylogenet. Evol.** 4, 20–30. 1995.
- DASH, S. T. **A taxonomic revision of the new world Hypoponera Santschi, 1938 (Hymenoptera: Formicidae)**. Tese de Doutorado – The University of Texas at El Paso, Department of Biological Sciences, 296. 2011.
- DAVIDSON, D. W.; COOK, S. C.; SNELLING, R. R.; CHUA, T. H. Explaining the Abundance of Ants in Lowland Tropical Rainforest Canopies. **Science**, vol: 300, 969-972. 2003.
- DAYRAT, B. Towards Integrative Taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, 85, 407-415. 2005.
- DELABIE, J. H. C.; MARIANO, C. S. F.; MENDES, L. F.; POMPOLO, S. G.; FRENESAU, D. “Problemas apontados por estudos morfológicos, ecológicos e citogenéticos no gênero *Pachycondyla* na Região Neotropical: o caso do complexo *apicalis*,” in **Insetos Sociais: da Biologia à Aplicação**, E. F. Vilela, I. A. Santos, J. H. Schoereder et al., Eds., pp. 196–222, Editora da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2008.
- DOWTON, M.; AUSTIN, A. D. Phylogenetic relationships among the microgastroid wasps (Hymenoptera: Braconidae): combined analysis of 16S and 28S rDNA genes and morphological data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 10, n. 3, p. 354-366, 1998.

- DOWTON, M; AUSTIN, A. D. Simultaneous analysis of 16S, 28S, COI and morphology in the Hymenoptera: Apocrita–evolutionary transitions among parasitic wasps. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 74, n. 1, p. 87-111, 2001.
- EMERY, C. Studi Sulle Formiche della fauna neotropical .XVII-XXV. **Bullettino della Società Entomologica Italiana**, 28: 33-107. 1896.
- EMERY, C. Sous-Familles des Dorylines et Ponérines (Famille des Formicides). **Extrait des Annales de la Société Entomologique de Belgique**, 30-54. 1901.
- EMERY, C. Hymenoptera, Fam. Formicidae, Subfam. Ponerinae. In: Wytzman, P. (Eds.). **Genera Insectorum, Bruxelles**, 118: 1- 125 . 1911.
- FABRICIUS, J. C. Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus. Brunsvigae, **Apud Carolum Reichard**, 30pp. Ants - 395-428. 1804.
- FAURON, C. M. R.; WOLSTENHOLME, D. R. Extensive diversity among *Drosophila* species with respect to nucleotide sequences within the adenine + thymine-rich region of mitochondrial DNA molecules. **Nucleic Acids Res** 8: 2439-2452. 1980.
- FEITOSA, R. dos S. M. “*Revisão taxonômica e análise filogenética de Heteroponerinae (Hymenoptera, Formicidae)*”. **Tese de Doutorado – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia**: 1-297. 2011.
- FERNANDES, I. O.; OLIVEIRA, de L. M.; DELABIE, J. H. Ch. Description of two new species in the Neotropical *Pachycondyla foetida* complex (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) and taxonomic notes on the genus. **Myrmecological news**, 19: 133-163 2014.
- FERNÁNDEZ, F. & M. OSPI NA. Sinopsis de las hormigas de la región Neotropical. In: Fernández, F. (ed). Introducción a las Hormigas de la Región Neotropical. **Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humbolt**. Bogotá, Colombia: 1-398. 2003.
- GODFRAY, H. C. J. Challenges for taxonomy. **Nature** 417: 17–19. 2002.
- GORDON, D. **Formigas em Ação. Como se Organiza uma sociedade de Insetos**. Jorge Zahar editor. Ciência e Cultura, 7-136. 2002.

- GRIMALDI, D. & M.S. ENGEL. Evolution of the insects. **Cambridge:** Cambridge University Press, xv + 755. 2005.
- GROZEVA, S.; KUZNETSOVA, V.G.; NOKKALA, S. Patterns of chromosome banding in four nabid species (Heteroptera, Cimicomorpha, Nabidae). *Hereditas*, v.140, p. 99-104, 2004.
- GUERRA, M dos S. Introdução a Citogenética Geral. **Ed. Guanabara**, Rio de Janeiro. 142 .1988.
- HEBERT, P. D. N.; PENTON, E. H.; BURNS, J. M.; JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **PNAS**, vol. 101 (41): 14812-14817. 2004.
- HÖLLDOBLER, B. & E.O. WILSON. The Ants. **Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.** 1-732. 1990.
- HOY, M.A. Insect molecular genetics. An introduction to principles and applications. **San Diego, Academic Press**, 546. 1994.
- IMAI, H. T.; CROZIER, R. H.; TAYLOR, R. W. Karyotype evolution in Australian ants. **Chromosome**, 59: 314-393. 1977.
- IMAI, H.T.; MARUYAMA, T.; GOJOBORI, T.; INOUE, Y.; CROZIER, R. H. Theoretical bases for karyotype evolution. 1. The minimum-interaction hypothesis. **The American Naturalist**, vol. 128: 900–920. 1986.
- IMAI, H.T.; TAYLOR, R.W.; CROSLAND, M.W.J.; CROZIER, R.H. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. **Japanese Journal of Genetics**, v. 63, p.159-185, 1988.
- IMAI, H. T., TAYLOR, R. W. & CROZIER, R. H. Experimental bases for the minimum interaction theory. I. Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). – **Japanese Journal of Genetics** 69: 137-182. 1994.
- JINBO, U; KATO, T; ITO, M. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. **Entomological Science**, v. 14, n. 2, p. 107-124, 2011.
- KNADEN, M.; TINAUT, A.; STOKL, J.; CERDÁ, X.; WEHNER, R. Molecular phylogeny of the desert ant genus *Cataglyphis* (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, 16: 123-132. 2012.

- KELLER, R. A. phylogenetic analysis of ant morphology (Hymenoptera Formicidae) with special reference to the poneromorph subfamilies. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 1- 355. 2011.
- KEMPF, W. W. Miscellaneous Studies on Neotropical Ants (Hymenoptera, Formicidae). **Studia Entomologica**, vol. 3: 1-4. 1960.
- KEMPF, W. W. As formigas do gênero *Pachycondyla* Fr. Smith no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, vol. 10, pp. 189–204, 1962.
- KJER, K. M.; CARLE, F. L.; LITMAN, J.; WARE, J. A. Molecular Phylogeny of Hexapoda. **Arthropod Systematics & Phylogeny** 64 (1): 35-44. 2006.
- LACH, L. & HOOPER-BUI, L. M. Consequences of ant invasions. *in* Ant Ecology, L. Lach, C. L. Parr and K. L. Abbott (editors). **Oxford University Press, Oxford, England**, 414. 2010.
- LONGINO, J.T. 2005. **Ants of Costa Rica**. Publicação eletrônica. Disponível em: <http://www.evergreen.edu/ants/AntsofCostaRica.html>. (Acessado em 20 de setembro de 2014).
- LORITE, P.; PALOMEQUE, T. Karyotype evolution in ants (Hymenoptera: Formicidae), with a review of the known ant chromosome numbers. **Myrmecological News**. 13: 89-102. 2010.
- MACKAY, W; MACKAY, E. The Systematics and Biology of the New World Ants of the Genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae). **The Edwin Mellen Press**, Lewiston, NY, USA, 2010.
- MARIANO, C.S.F. **Evolução cariotípica em diferentes grupos de Formicidae**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. 205 . 2004.
- MARIANO, C.S.F.; POMPOLO S.G., BARROS, L.A.C.; MARIANO-NETO, E.; CAMPIOLO, S.; DELABIE, J.H.C. A biogeographical study of the threatened ant *Dinoponera lucida* Emery (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) using a cytogenetic approach. **Insect Conservation and Diversity** 1: 161-168. 2008.
- MARIANO, C. dos S. F.; POMPOLO, S. das G.; SILVA, J. G.; DELABIE, J. H. Ch. Contribution of Cytogenetics to the Debate on the Paraphyly of *Pachycondyla* spp. (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). **Psyche**, 9. 2012.

- MATIOLI, S. R. & FERNANDES, F. M. C. **Biologia Molecular E evolução**. Editora Holos. 2^o edição. 2012.
- MAYR, G. Formicidae. In: Novara Expedition 1865. Reise der Österreichischen Fregatte "Novara" um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859. Zoologischer Theil. Bd. II. **Abt. 1. Wien: K. Gerold's Sohn**, 119. 1865.
- MOREAU, C.S.; BELL, C.D.; VILA, R.; ARCHIBALD, S.B.; PIERCE, N.E. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. **Science**, (Washington, D. C.), 312:101-104. 2006.
- MOREAU, C. S. & BELL, Ch. D. Testing the museum versus cradle tropical biological diversity hypothesis: phylogeny, diversification, and ancestral biogeographic range evolution of the ants. **Evolution**, 1-18. 2013.
- OLIVEIRA, P.S.; OBERMAYER, M.; HÖLLDOBLER, B. Division of labor in the neotropical ant, *Pachycondyla stigma* (Ponerinae), with special reference to mutual antennal rubbing between nestmates (Hymenoptera). **Sociobiology**, 31 (1), 9–24. 1998.
- PADIAL, J.M. & DE LA RIVA, I. Integrative taxonomists should use and produce DNA barcodes. **Zootaxa** 1586:67-68. 2007.
- PIRES, A. C.; MARINONI, L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 339-346, 2010.
- ROGER, J. Die neu aufgeführten Gattungen und Arten meines Formiciden-Verzeichnisses nebst Ergänzung einiger früher gegebenen Beschreibungen. **Berliner Entomogische Zeitschrift** 7: 131-214. 1863.
- ROSS, K. G.; SHOEMARKER, D. D. Species delimitation in native South American fire ants. **Molecular Ecology**, 14 (11), 3419-3438. 2005.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados, Uma abordagem Funcional-evolutiva**, 7^o edição, editora Roca, 599-600. 2005.
- SANTOS, I. S.; COSTA, A. M. MARIANO, C. S. F.; DELABIE, J. H. C.; ANDRADE-SOUZA, V.; SILVA, J. G. A Cytogenetic Approach to the Study of Neotropical *Odontomachus* and *Anochetus* Ants (Hymenoptera: Formicidae), **Annals of the Entomological Society of America**, v. 103 (3): 424-429. 2010.

- SCHLICK-STEINER, B. C.; STEINER, F. M.; MODER, K.; SEIFERT, B., SANETRA, M.; DYRESON, E.; CHRISTIAN, E. A multidisciplinary approach reveals cryptic diversity in Western Palearctic *Tetramorium* ants (Hymenoptera: Formicidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 40 (1), 259-273. 2006.
- SCHMIDT, C. A. Molecular phylogenetics of Ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Zootaxa** 3647 (2): 201-250. 2013.
- SCHMIDT, C. A.; SHATTUCK, S. O. The Higher Classification of the Ant Subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a Review of Ponerinae Ecology and Behavior. **Zootaxa**, 1: 1-242. 2014.
- SHATTUCK, S.O. Higher classification of the ant subfamilies Aneuretinae, Dolichoderinae and Formicinae (Hymenoptera: Formicidae). **Systematic Entomology**, 17: 199-206. 1992.
- SMITH, F. Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum. Part VI. Formicidae. London: British Museum, 216. 1858.
- SMITH, V. S. DNA barcoding: perspectives from a “Partnerships for Enhancing expertise in taxonomy” (PEET) debate. **Syst. Biol.** 54: 841-844. 2005.
- SOUZA, A. L. B. de; MARIANO, C. dos S. F. DELABIE, J. H. CH.; POMPOLO, S. das G.; SERRÃO, J. E. Cytogenetic Studies on Workers of the Neotropical ant *Wasmannia auropunctata* (Roger, 1863) (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). **Annales de la Société entomologique de France**. 37-41. 2011.
- WARD, P.S. & BRADY, S.G. Phylogeny and biogeography of the ant subfamily Myrmeciinae (Hymenoptera: Formicidae). **Invertebrate Systematics**, 17, 361–386. 2003.
- WARD, P.S. & DOWNIE, D.A. The ant subfamily Pseudomyrmecinae (Hymenoptera: Formicidae): phylogeny and evolution of big-eyed arboreal ants. **Systematic Entomology**, 30, 310–335. . 2005.
- WARD P. S. Phylogeny, classification, and species-level taxonomy of ants (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa** 1668:549-563. 2007.
- WARD, P.S. Taxonomy, Phylogenetics, and Evolution. **Abbott (editors) Oxford University Press, Oxford, England**, 414. 2010.

- WETTERER, J. K. Worldwide spread of the *stigma* ant *Pachycondyla stigma* (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, 16: 39-44). 2012.
- WHEELER, Q. .; RAVEN, P. H.; WILSON, E. O. Taxonomy: impediment or expedient? **Science** 303: 285. 2004.
- WHITWORTH, T.L., DAWSON, R.D., MAGALON, H. & BAUDRY, E. 2007. DNA barcoding cannot reliably identify species of the blowfly genus *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae). **P. R. Soc. B** 274:1731-1739. 2007.
- WILD, A.L. The genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae) in Paraguay. **Boletín del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay**, 14: 1-18. 2002.
- WILL, K.W., MISHLER, B.D. & WHEELER, Q.D. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. **Syst. Biol.** 54:844-851. 2005.
- WILSON, E. O. Studies on the ant fauna of Melanesia III. *Rhytidoponera* in western Melanesia and the Moluccas. IV. The tribe Ponerini. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, 119:303-371. 1958.
- WILSON, E. O. Taxonomy as a fundamental discipline. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London** 359: 739. 2004.
- WILSON, E.O. & HÖLLDOBLER, B. The rise of the ants: A phylogenetic and ecological explanation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102: 7411-7414. 2005.
- VELASCO, Y. A. M.; DELABIE, J. H. Ch.; COSTA, M. A.; LACAU, S.; MARIANO, C. dos S. F. Studies on the Karyotype of the Ant *Pachycondyla harpax* (FORMICIDAE: PONERINAE: PONERINI) in Southern Bahia, Brazil. **The Florida Entomologist**, 1-19. 2014.

CAPÍTULO I

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) E *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960) (FORMICIDAE: PONERINAE): UMA ABORDAGEM CITOTAXONÔMICA

RESUMO

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) E *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960) (FORMICIDAE: PONERINAE): UMA ABORDAGEM CITOTAXONÔMICA

Pseudoponera stigma e *Pseudoponera gilberti* são espécies morfológicamente semelhantes e frequentemente erroneamente identificadas. Estas espécies compartilham também características comportamentais e ecológicas. No presente trabalho, foi avaliada a citogenética como ferramenta para delimitação taxonômica de *P. stigma* e *P. gilberti*. Foi realizada a caracterização numérica, morfológica e os padrões de coloração por fluorocromos CMA₃ e DAPI dos cromossomos. A fórmula cariotípica de *P. stigma*, 2K = 10M + 4SM diferiu de *P. gilberti*, 2K = 10M + 2SM, bem como as localizações dos sítios de CMA₃⁺/DAPI⁻ permitindo distinguir as espécies através de caracteres cariotípicos.

Palavras-chave: Formigas, Citotaxonomia, cariótipo, CMA₃/ DAPI

ABSTRACT

CYTOGENETIC ANALYSIS OF *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) AND *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960) (FORMICIDAE: PONERINAE): A TAXONOMIC APPROACH

Pseudoponera stigma and *Pseudoponera gilberti* are very closely related species and often misclassified species due to their morphological similarities. These species also share behavioral and ecological characters. In this study, cytogenetics was used as a tool for taxonomic delimitation of *P. stigma* and *P. gilberti*. Numerical, morphological and patterns of staining CMA₃ and DAPI fluorochromes characterization was performed in the karyotypes. The karyotype formula of *P. stigma*, 2K = 10M + 4SM differs from *P. gilberti*, 2K = 10M + 2SM, as well as the locations of the CMA₃⁺ / DAPI⁻ sites, allowing to distinguish the species by chromosomal characters.

Keywords: Ants, cytotaxonomy, karyotype, CMA₃/ DAPI

I. 1. INTRODUÇÃO

Estudos citogenéticos de 95 morfoespécies de Ponerinae revelou alta variação numérica entre $2n = 8$ e $2n = 120$ cromossomos (LORITE & PALOMEQUE, 2010; MARIANO et al., 2012).

O primeiro estudo citogenético utilizando técnica de coloração convencional com o gênero *Pseudoponera* Emery, 1900 foi realizado com espécies que anteriormente eram alocadas no gênero *Pachycondyla* por Mariano et al. (2012). Estas espécies exibiram cariótipos com baixo número de cromossomos e com alta frequência de cromossomos metacêntricos. Foram encontradas as fórmulas cariotípicas $2K = 10M + 2A$ para *Pseudoponera gilberti*, $2K = 12M$ para *Pseudoponera stigma* e $2K = 14M$ para *Pseudoponera succedanea*.

Estudos sobre evolução do cariótipo em formigas (IMAI et al., 1994) tem sugerido que cariótipos com números cromossômicos baixos e cromossomos grandes exibem características basais e cariótipos com maior número e cromossomos pequenos representam estados derivados. O desenvolvimento de cromossomos menores por fissão cêntrica seria uma tendência, influenciada pela vantagem de diminuição da frequência das translocações deletérias resultantes das interações físicas cromossômicas. Esse processo geraria um aumento do número de cromossomos e conteúdo de acrocêntricos e telocêntricos. Adicionalmente, pequenos cromossomos acrocêntricos e telocêntricos podem ser convertidos em meta e submetacêntricos por inversão pericêntrica embora fusões cêntrica também possam ocorrer (IMAI et al., 1986; 1988). Isso sugere que cariótipos de *P. stigma* e *P. gilberti* compartilhem características basais (MARIANO et al., 2012).

O número e morfologia dos cromossomos são ainda os parâmetros mais utilizados em estudos citogenéticos comparativos em formigas, principalmente, em espécies próximas e dificilmente delimitadas morfologicamente (MARIANO et al., 2012). Entretanto, em alguns grupos, além dessas técnicas convencionais, têm sido utilizadas a coloração com fluorocromos CMA₃/ DAPI, em *Dinoponera lucida* (MARIANO et al., 2008), *Wasmannia auropunctata* (SOUZA et al., 2011), *Odontomachus* e *Anochetus* (SANTOS et al., 2010),

Mycocepurus goeldii (BARROS et al., 2010) e *Acromyrmex striatus* (CRISTIANO et al., 2013).

Com o objetivo de estabelecer uma melhor delimitação destas espécies, muitas vezes confundidas morfológicamente, foi realizada a caracterização cariotípica por meio de técnica citogenética convencional e coloração com fluorocromos CMA₃ e DAPI.

I. 2. MATERIAIS E MÉTODOS

I. 2.1. Coletas de Material Biológico

As colônias de *P. stigma* e *P. gilberti* foram coletadas em áreas de mata primária, secundária e áreas de “cabruca” (plantio de cacau com cobertura de floresta), nos estados de Pernambuco, Bahia e Espírito Santo (Figura I. 1 e Tabela I. 1).

Espécimes voucher de cada colônia foram montados para identificação e depositados na coleção do Laboratório de Mirmecologia CEPLAC/ CPDC.

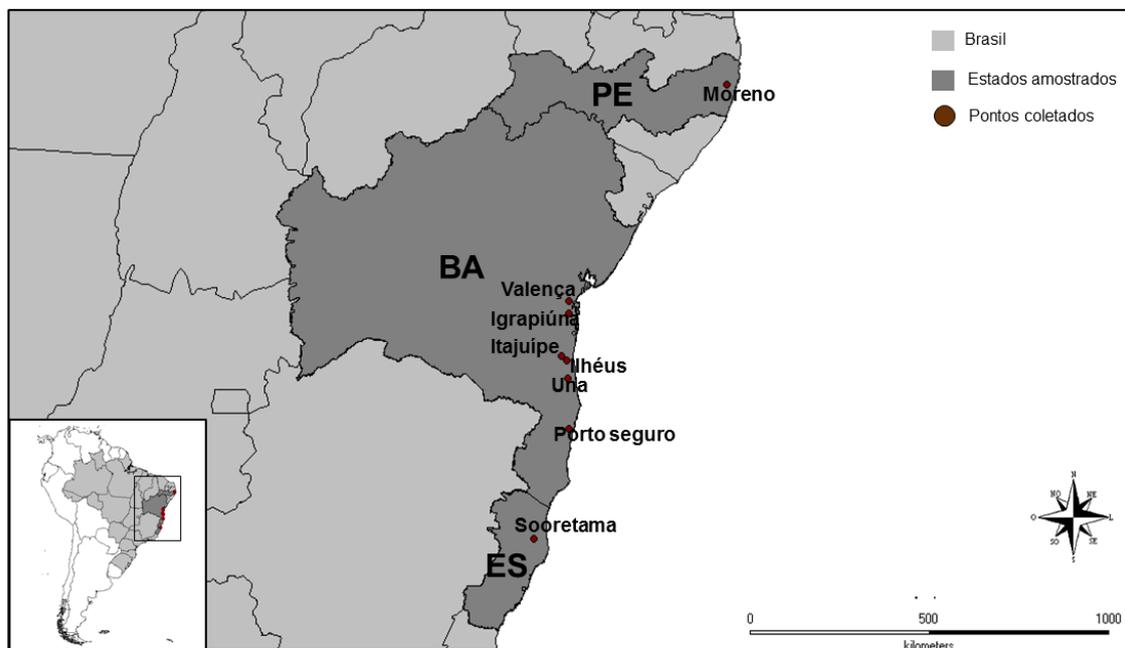


Figura I. 1: Mapa de amostragens das colônias analisadas. Os círculos representam os pontos de coletas.

I. 2. 3. Análises citogenéticas

As metáfases mitóticas foram obtidas a partir de gânglios cerebrais de larvas no último instar, seguindo o protocolo de Imai et al. (1988).

As lâminas preparadas foram coradas por 30 minutos com uma solução de Giemsa e tampão fosfato 0,06M, pH 6,8 na proporção de 1:30. As metáfases de melhor qualidade foram fotografadas em um microscópio Olympus BX-41 com câmera digital acoplada.

Os cariogramas foram organizados com auxílio do software Adobe Photoshop® CS6 13.0x 64 arranjados de acordo com Levan et al. (1964). A partir dos cariogramas foram determinadas as fórmulas cariotípicas.

I. 2. 4. Coloração com fluorocromos CMA₃ e DAPI

As colorações com fluorocromos base-específica Cromomicina A₃ (CMA₃) e 4,6-diamidino-2-phenilindole (DAPI) foram realizadas seguindo Schweizer (1980), com modificações propostas por Guerra & Souza (2002). A montagem das lâminas foi feita com meio de montagem Vectashield.

As lâminas foram analisadas em microscópio de epifluorescência Leica DMRA2 e as imagens capturas usando o software Leica IM50 (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltda, Cambridge, UK).

I. 3. RESULTADOS

I. 3. 1. Coletas de material biológico

Foram coletadas 13 colônias e 182 espécimes, sendo a espécie mais coletada *P. gilberti*. O número de exemplares de cada espécie na amostragem está informado na Tabela I. 1.

Tabela I. 1: Locais de coleta, espécies, coordenadas geográficas, números de colônias e indivíduos amostrados.

Município	Espécies coletadas	Coordenadas		Nº de Colônias/ Nº de Indivíduos
		Latitude	Longitude	
Moreno - PE	<i>P. gilberti</i>	8°08' 24"S	35°08'58"O	2/38
Valença (Faz. Expedito) - BA	<i>P. stigma</i>	13°20'10"S	39°10'14"O	1/10
Igrapiúna (Res. Michelin) - BA	<i>P. gilberti</i>	13°38'45"S	39°10'14"O	1/12
Itajuípe (CEPLAC) - BA	<i>P. gilberti</i>	14°41'06"S	39°22'01"O	1/18
Ilhéus (CEPLAC) - BA	<i>P. stigma</i>	14°47'08"S	39°13'20"O	3/59
Una (Faz. Wesley) – BA	<i>P. gilberti</i>	15°12'40"S	39°11'05"O	2/15
Porto Seguro (ESPAB) – BA	<i>P. gilberti</i>	16°25'09"S	39°09'40"O	2/23
Sooretama – ES	<i>P. gilberti</i>	19°08' 50"S	40°04' 14"O	1/7

I. 3. 2. Caracterização dos cariótipos

As análises das colônias de *P. gilberti* e *P. stigma* confirmaram dois diferentes cariótipos, referentes a cada uma das espécies, entretanto diferentes daqueles previamente encontrados por Mariano et al (2012). Os cariótipos mostraram um baixo número cromossômico e padrão assimétrico. A Tabela I. 2 traz os números cromossômicos e fórmulas cariotípicas para cada colônia analisada.

Tabela I. 2: Número cromossômico e fórmula cariotípica das espécies analisadas

Espécie	Localidade	Nº cromossômico		Fórmula cariotípica diploide (2K)
		n	2n	
<i>P. gilberti</i>	Igrapiúna (Res. Michelin) - BA	6	12	10 M +2SM
	Itajuípe (CEPLAC) - BA	6	12	10 M +2SM
	Moreno – PE	-	12	10 M +2SM
	Porto Seguro (ESPAB) – BA	6	12	10 M +2SM
	Sooretama – ES	-	12	10 M +2SM
	Una (Faz. Anarauna) – BA	6	12	10 M +2SM
<i>P. stigma</i>	Ilhéus (CEPLAC) - BA	7	14	10M + 4SM

O cariótipo de *P. gilberti* apresentou $2n = 12$ cromossomos, sendo o primeiro par maior do que os demais pares, o 4º par submetacêntrico e o restante dos cromossomos metacêntricos (Figura I. 2a, b e 3a). A Figura 2b mostra o cariótipo de macho haploide $n = 6$.

P. stigma apresentou $2n = 14$ e $n = 7$ cromossomos (Figura I. 2c, d e 3b). O 3º e 4º pares são submetacêntricos e os demais são metacêntricos. O 1º e 2º par são maiores e diferem no tamanho e os demais apresentam tamanho similar.

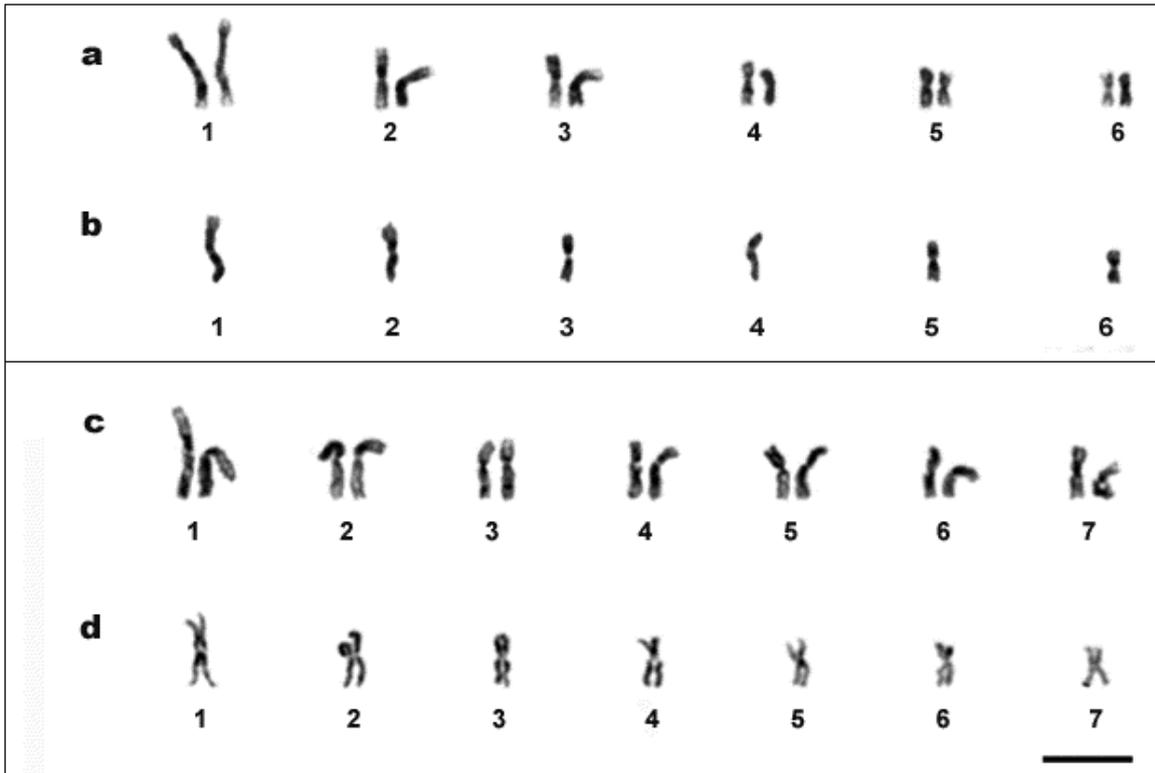


Figura I. 2: Cariogramas em coloração convencional. (a) e (b): Cariótipos de *P. gilberti* $2n = 12$ e $n = 6$; (c) e (d): Cariótipos de *P. stigma* $2n = 14$ e $n = 7$. Barra = $10 \mu\text{m}$.

I. 3. 3. Coloração CMA₃/ DAPI

A técnica de coloração por CMA₃ e DAPI em *P. gilberti* permitiu a localização de um sítio de CMA₃⁺/ DAPI⁻ (rico em GC) na região intersticial do 1^o par cromossômico. Os demais cromossomos não apresentaram marcação diferencial (Figura I. 3a). Em *P. stigma*, apresentou uma banda CMA₃⁺/ DAPI⁻ no braço curto do 4^o par cromossômico submetacêntrico (Figura I. 3b).

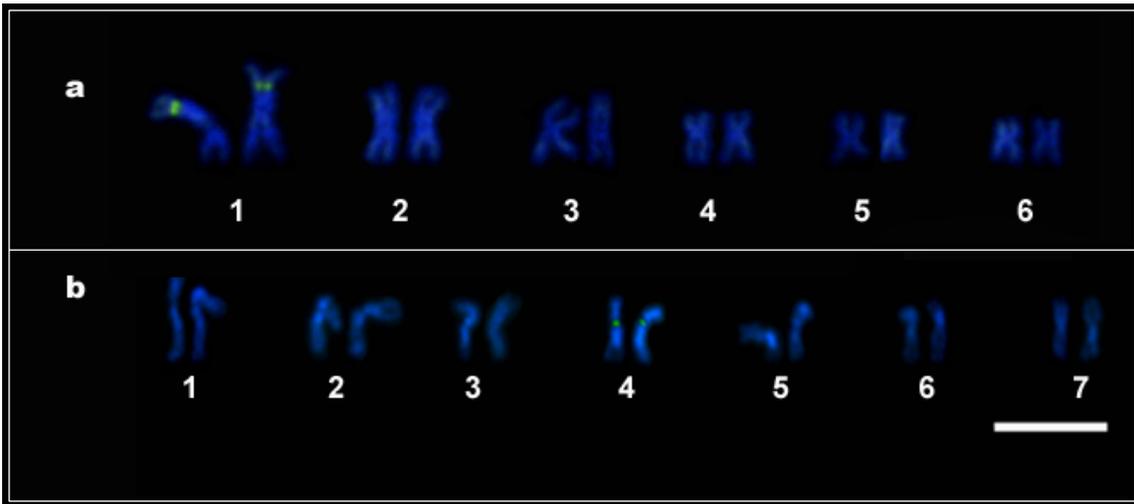


Figura 1. 3: Cariótipos em coloração sequencial com fluorocromos CMA₃ /DAPI. (a) Cromossomos de *P. gilberti*, mostrando banda CMA₃⁺ no primeiro par; (b): Cromossomos de *P. stigma*, indica banda de CMA₃⁺ no quarto par. Barra = 10 µm.

I. 4. DISCUSSÃO

P. stigma e *P. gilberti* apresentam morfologia externa muito semelhante (KEMPF, 1960; MACKAY & MACKAY, 2010). Além disso, exibem distribuição simpátrica e época de reprodução comum (MACKAY & MACKAY, 2010). Essas duas espécies são divergentes na forma e esculturação do clipeo e das mandíbulas (KEMPF, 1960; MACKAY & MACKAY, 2010).

Devido a grande similaridade morfológica essas espécies de *Pseudoponera* foram equivocadamente identificadas em estudos anteriores. Problema semelhante pode gerar resultados conflitantes entre a presente análise e a de Mariano et al. (2012), onde exemplares de *P. stigma* foram identificados como *P. gilberti* e vice versa.

No presente estudo foi verificado consistentemente por meio de amostragem mais ampla $2K = 10M + 2SM$ para *P. gilberti* diferente do $2K = 12M$ (MARIANO et al., 2012) e $2k = 10M + 4SM$ em *P. stigma* divergente do $2K = 10M + 2A$ anteriormente registrado.

Cariótipos com variações semelhantes foram também observados em outros grupos da tribo Ponerini. Isso demonstra a necessidade de uma análise morfológica integrada com dados genéticos para táxons muito semelhantes. As espécies do complexo *Neoponera apicalis* (*N. verenae* com $2K = 30M + 12A$, $2K = 14M + 48A$, $2K = 14M + 44A$ e $2K = 12M + 52A$ e *N. apicalis* ($2K =$

28M + 8A, 2K = 30M + 10A e 2K = 48M + 20A) (DELABIE et al., 2008; MARIANO et al., 2012), que foram delimitadas através das comparações morfológicas e acústicas dos órgãos estridulatórios e relações filogenéticas com base em gene mitocondrial (FERREIRA et al., 2010). Do mesmo modo, as espécies do complexo *Neoponera foetida* como *N. curvinodis* [*Neoponera villosa* e *Neoponera bactronica* (nomeada erroneamente como *curvinodis*, ver FERNANDES et al., 2014)] (VELASCO et al., 2014) apresentaram respectivamente 2K = 4M + 22A e 2K = 22M + 6A e *N. inversa* com 2K = 20M + 10A (MARIANO et al., 2012). Essas espécies foram delimitadas por comportamento agonístico, dados morfométricos e caracteres bioquímicos (LUCAS et al., 2002).

Os cariótipos de *P. gilberti* e *P. stigma* aqui analisados apresentaram baixo número de cromossomos ($n \leq 11$) comparado com algumas espécies de Ponerini que chegam a ter $n = 60$ e predominância de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. Estas características têm sido interpretadas como pertencentes a cariótipos mais basais (IMAI et al., 1994; LORITE & PALOMEQUE, 2010; MARIANO et al., 2012).

Junto com *Pseudoponera*, os gêneros *Diacamma*, com $2n = 5-35$, 5-54 6-31, 8-33, 10-30 ou 14 (KARNIK et al., 2010) e *Ponera*, com $2n = 7$ ou 8 (IMAI & KUBOTA, 1975; IMAI et al., 1988) apresentam espécies com cariótipos de baixo número cromossômico, uma característica supostamente plesiomórfica (IMAI et al., 2002), que pode sugerir a ancestralidade dos gêneros que constitui o grupo *Ponera*. Schmidt (2013), através de dados moleculares, definiu a monofilétismo do grupo *Ponera*. Mas, por outro lado, sinapomorfias morfológicas ainda não foram descobertos para sustentar a formação desse grupo de gêneros (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014).

Os padrões distintos de marcação CMA₃/DAPI descritos neste estudo foram de grande valia para caracterizar os cariótipos distinguir as espécies aqui estudadas.

A presença de dois sítios CMA₃⁺/DAPI⁻ (segmentos cromossômicos ricos em pares de base GC) nos cariótipos de *P. gilberti* (primeiro par) e *P. stigma* (quarto par) podem corresponder às respectivas Regiões Organizadoras de Nucléolo (NOR), similar ao tem sido observado em outros estudos com insetos (ALMEIDA, et al., 2006; GROZEVA, et al., 2004; MANICARDI et al.,

1996; KUZNETSOVA et al., 2001; SANTOS, et al., 2010). Esta correlação poderá ser confirmado com a técnica de bandamento NOR, que impregna com nitrato de prata as regiões produtoras de RNAr (SUMMER, 1990).

Os dados citogenéticos combinadas à análise morfológica são importantes para diferenciar *P. stigma* de *P. gilberti*. Além disso, as variações cariotípicas intraespecíficas dessas duas espécies (*P. gilberti*, 2K = 10M + 2SM e 2K = 12M; *P. stigma*, 2K = 10M + 4SM e 2K = 10 + 2A) indicam a ocorrência de especiação simpátrica no sul da Bahia, mesmo essas variações não serem acompanhadas por alterações morfológicas externas.

Contudo, *P. stigma* apresenta uma descrição morfológica pouco detalhada (ver FABRICIUS, 1804 e MACKAY & MACKAY, 2010). E assim, indivíduos dessa espécie são nomeados pela comparação de caracteres morfológicos, biológicos e ecológicos, podendo gerar erros na identificação. Deste modo, uma análise morfológica detalhada de *P. stigma*, com uma redescrição dessa espécie está em desenvolvimento.

I. 5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.M.; CAMPENER, C.; CELLA, D.M. **Karyotype characterization, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions of *Paranaita opima* (Coleoptera, Chrysomelidae, Alticinae)**. *Genetics and Molecular Biology*. v. 29, n.3, p. 475-481, 2006.
- BARROS, L. A. C.; AGUIAR, H. J. A. C. de; MARIANO, C. dos S. F.; DELABIE, J. H. Ch. Cytogenetic Characterization of the Lower-Attine *Mycocepurus goeldii* (Formicidae: Myrmicinae: Attini). ***Sociobiology***, vol. 56, n° 1: 57-67. 2010.
- CRISTIANO, M. P.; CARDOSO, D. Cl.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Cytogenetic and Molecular Analyses Reveal a Divergence between *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) and Other Congeneric Species: Taxonomic Implications. ***Plos one***, 8 (3): 1- 9. 2013.
- DELABIE, J. H. C.; MARIANO, C. S. F.; MENDES, L. F.; POMPOLO, S. G.; FRENESAU, D. “Problemas apontados por estudos morfológicos, ecológicos e citogenéticos no gênero *Pachycondyla* na Região Neotropical: o caso do complexo *apicalis*,” in ***Insetos Sociais: da Biologia à Aplicação***, E. F. Vilela, I. A. Santos, J. H. Schoereder et al., Eds., pp. 196–222, Editora da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2008.
- FABRICIUS, J. C. *Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus*. Brunsvigae, **Apud Carolum Reichard**, 30pp. Ants - 395-428. 1804.
- FERNANDES, I. O.; OLIVEIRA, de L. M.; DELABIE, J. H. Ch. Description of two new species in the Neotropical *Pachycondyla foetida* complex (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) and taxonomic notes on the genus. ***Myrmecological News***, 19: 133163. 2014.
- FERREIRA, R. S.; POTEAUX, Ch.; DELABIE, J. H. Ch.; FRESNEAU, D.; RYBAK, F. Stridulations Reveal Cryptic Speciation in Neotropical Sympatric Ants. ***Plos one*** (5), 1-11. 2010.
- GUERRA, M. S. & SOUZA M. J. **Como Observar Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, 2002.

- GROZEVA, S.; KUZNETSOVA, V.G.; NOKKALA, S. **Patterns of chromosome banding in four nabid species (Heteroptera, Cimicomorpha, Nabidae)**. *Hereditas*, v.140, p. 99-104, 2004.
- IMAI, H.T.; MARUYAMA, T.; GOJOBORI, T.; INOUE, Y.; CROZIER, R. H. Theoretical bases for karyotype evolution. 1. The minimum-interaction hypothesis. **The American Naturalist**, vol. 128: 900–920. 1986.
- IMAI, H.T.; TAYLOR, R.W.; CROSLAND, M.W.J.; CROZIER, R.H. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. **Japanese Journal of Genetics**, v. 63, p.159-185, 1988.
- IMAI, H. T., TAYLOR, R. W. & CROZIER, R. H. Experimental bases for the minimum interaction theory. I. Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). – **Japanese Journal of Genetics** 69: 137-182. 1994.
- IMAI, H.T.; SATTA, Y.; WADA & TAKAHATA, M. Estimation of the Highest Chromosome Number of Eukaryotes Based on the Minimum Interaction Theory. **Journal of Theoretical Biology**, 217: 61-74. 2002.
- KARNIK, N.; CHANNAVEERAPPA, H.; RANGANATH, H. A.; GADAGKAR, R. Karyotype instability in the ponerine ant genus *Diacamma*. **Journal of Genetics** 89 (2): 173-183. 2010.
- KEMPF, W. W. Miscellaneous studies on neotropical ants. II (Hymenoptera, Formicidae). **Studia Entomologica** 5: 1-38. 1960.
- KUZNETSOVA, V. G.; WESTENDORFF, M.; NOKKALA, S. **Patterns of chromosome banding in the sawfly family Tenthredinidae (Hymenoptera, Symphyta)**. *Caryologia*. v. 54, p. 227-233, 2001.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SONBERG, A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, 52: 201-220. 1964.
- LORITE, P.; PALOMEQUE, T. Karyotype evolution in ants (Hymenoptera: Formicidae), with a review of the known ant chromosome numbers. **Myrmecological News**. 13: 89-102. 2010.
- LUCAS, C.; FRESNEAU, D.; KOLMER, K.; HEINZE, J.; DELABIE, J.H.C.; Pho, B. 2002. A multidisciplinary approach to discriminating different taxa in the species complex *Pachycondyla villosa* (Formicidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 75: 249-259. 2002

- MANICARDI, G. C.; BIZZARO, D., GALLI, E. Heterochromatin heterogeneity in the holokinetic X chromatin of *Megoura viciae* (Homoptera, Aphididae). **Genome**, v. 39, p. 465-470, 1996.
- MARIANO, C. S. F.; DELABIE, J. H. C.; SANTOS, J. R. M.; POMPOLO, S. G. "Evolução cariotípica em *Pachycondyla* spp. (Ponerinae) neotropicais," **Biológico**, vol. 69, suplemento 2: 409–412. 2007.
- MARIANO, C.S.F.; POMPOLO S.G., BARROS, L.A.C.; MARIANO-NETO, E.; CAMPIOLO, S.; DELABIE, J.H.C. A biogeographical study of the threatened ant *Dinoponera lucida* Emery (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) using a cytogenetic approach. **Insect Conservation and Diversity** 1: 161-168. 2008.
- MARIANO, C. dos S. F.; POMPOLO, S. das G.; SILVA, J. G.; DELABIE, J. H. Ch. Contribution of Cytogenetics to the Debate on the Paraphyly of *Pachycondyla* spp. **Psyche**, v.(2012): 2-9. 2012.
- SANTOS, I. S.; COSTA, A. M. MARIANO, C. S. F.; DELABIE, J. H. C.; ANDRADE-SOUZA, V.; SILVA, J. G. A Cytogenetic Approach to the Study of Neotropical *Odontomachus* and *Anochetus* Ants (Hymenoptera: Formicidae), **Annals of the Entomological Society of America**, v. 103 (3): 424-429. 2010.
- SCHMIDT, C. A. Molecular phylogenetics of ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Zootaxa** 3647 (2): 201-250. 2013.
- SCHMIDT, C. A. & SHATTUCK, S. O. The Higher Classification of the Ant Subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a Review of Ponerinae Ecology and Behavior. **Zootaxa**, 1: 1-242. 2014.
- SCHWEIZER, V. Reverse fluorescent chromosome banding. **Chromosoma**, v.58, 317-324, 1976.
- SOUZA, A. L. B. de; MARIANO, C. dos S. F. DELABIE, J. H. CH.; POMPOLO, S. das G.; SERRÃO, J. E. Cytogenetic Studies on Workers of the Neotropical ant *Wasmannia auropunctata* (Roger, 1863) (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). **Annales de la Société entomologique de France**. 37-41. 2011.
- SUMNER, A. T. **Chromosome banding**. 1. ed. London: Unwin Hyman Inc., v.1: 434. 1990.

VELASCO, Y. A. M.; DELABIE, J. H. Ch.; COSTA, M. A.; LACAU, S.;
MARIANO, C. dos S. F. Studies on the Karyotype of the Ant
Pachycondyla harpax (FORMICIDAE: PONERINAE: PONERINI) in
Southern Bahia, Brazil. **The Florida Entomologist**, 1-19. 2014.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960) E *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) (FORMICIDAE: PONERINAE) POR MEIO DE SEQUÊNCIAS DE GENES MITOCONDRIAIS

RESUMO

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Pseudoponera stigma* (Kempf, 1960) E *Pseudoponera gilberti* (Fabricius, 1804) (FORMICIDAE: PONERINAE) POR MEIO DE SEQUÊNCIAS DE GENES MITOCONDRIAIS

Pseudoponera exhibe uma taxonomia complexa e contém espécies dificilmente distintas morfológicamente. Neste estudo foi realizada uma análise filogenética com fragmentos dos genes mitocondriais: COI e 16S, visando uma melhor delimitação de *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera gilberti*. Os resultados permitiram distinguir um grupo composto por amostras de *P. gilberti* e outro por *P. stigma*, agrupados em um clado. Adicionalmente, *Neoponera bucki* + *Leptogenys arcuata* compõem o grupo próximo de *Pseudoponera*.

Palavra-chave: *Pseudoponera*, COI, 16S, filogenia, delimitação.

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Pseudoponera stigma* (Kempf, 1960) AND *Pseudoponera gilberti* (Fabricius, 1804) (FORMICIDAE: PONERINAE) BASED ON MITOCHONDRIAL GENE SEQUENCES

Pseudoponera displays a complex taxonomy and contains morphologically indistinguishable species. With the objective of providing better delineation of *Pseudoponera gilberti* and *Pseudoponera stigma* we performed a phylogenetic analysis using fragments of COI and 16S mitochondrial genes. The results showed a group composed of *P. gilberti* samples and another by *P. stigma*, grouped into a clade. Additionally, *Neoponera bucki* + *Leptogenys arcuata* was placed as a sister clade to *Pseudoponera*.

Keyword: *Pseudoponera*, COI, 16S, phylogeny, delimitation

II. 1. INTRODUÇÃO

A primeira filogenia com formigas foi fundamentada em caracteres morfológicos (BROWN, 1954), apesar de apresentar uma análise robusta, não demonstrou de forma clara a monofilia de Formicidae (FEITOSA, 2011).

Estudos recentes com base morfológica (BOLTON, 2003; KELLER, 2011; SCHMIDT & SHATTUCK, 2014) e dados moleculares (ASTRUC et al., 2004; MOREAU et al., 2006; BRADY et al., 2006; SCHMIDT, 2013) geraram modificações na classificação de diversos táxons de Formicidae.

A revisão de *Pachycondyla* neotropical estabelecida por Mackay & Mackay (2010), através de dados morfológicos, registrou 92 espécies agrupadas em 18 complexos. Entre estes, o complexo *stigma* é formado por *Pachycondyla bucki* (Borgmeier, 1927), *Pachycondyla cognata* (Emery, 1896) *Pachycondyla gilberti* (Kempf, 1960), *Pachycondyla gilloglyi* Mackay & Mackay, 2010, *Pachycondyla lenkoi* Kempf, 1962, *Pachycondyla stigma* (Fabricius, 1804) e *Pachycondyla succedanea* (Roger, 1863).

Na classificação de Schmidt & Shattuck (2014), a maior parte das espécies do complexo *stigma* foi realocada em *Pseudoponera* Emery, 1900, incluindo *Pseudoponera cognata*, *Pseudoponera gilberti*, *Pseudoponera gilloglyi*, *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera succedanea*, excluindo *Pachycondyla bucki* e *Pachycondyla lenkoi* e adicionando *Pseudoponera pachynoda* (Clark, 1930).

Neoponera bucki foi descrita por Borgmeier (1927) como *Leptogenys bucki* e reclassificada por Brown (1995) como *Pachycondyla bucki*. Atualmente, esta espécie foi incluída por Schmidt & Shattuck (2014) em *Neoponera*, um gênero morfológicamente diverso.

Muitos táxons de Ponerinae sofreram alterações e algumas mudanças taxonômicas são pouco justificadas (EMERY, 1911). Esta situação ainda tem sido observada e cada vez mais estudos moleculares são utilizados para delimitação e organização dos táxons (ROSS et al., 2005; MOREAU et al., 2006; SCHMIDT, 2013).

As espécies *P. stigma* e *P. gilberti* compartilham alta similaridade morfológica (KEMPF, 1960; MACKAY & MACKAY, 2010), o que gera um grande desafio para taxonomia dessas espécies. Nas últimas décadas, estudos

envolvendo espécies muito próximas têm recebido o auxílio do uso de DNA mitocondriais ou nucleares (BICKFORD, 2007; SEIFERT et al., 2009; BERNASCONI et al., 2011).

Alguns genes mitocondriais são frequentemente usados por serem mais variáveis, a exemplo do Citocromo Oxidase I (COI) (AYALA et al., 1996; MOREAU, 2008; BACCI et al., 2009) e DNAr 16S (CROZIER et al., 1995; MOREAU, 2008; BERNASCONI et al., 2011).

No presente estudo foi realizada a análise filogenética molecular por meio de sequências de DNA mitocondrial dos genes Citocromo Oxidase I e DNAr 16S, incluindo espécimes de *P. gilberti* e *P. stigma* de diferentes localidades para delimitação destas espécies e verificação de uma diversidade críptica.

II. 2. MATERIAL E MÉTODOS

II. 2. 1. Locais de coletas e amostragens

Os adultos de *P. gilberti* e *P. stigma* foram coletados diretamente nos ninhos em diferentes localidades do Brasil na Floresta Atlântica, incluindo os estados do Pernambuco, Bahia e Espírito Santo. Outras amostras foram obtidas de distintas localidades da Floresta Amazônica, de localidades no estado de Rondônia e no Peru, além das amostras do grupo externo, como mostra a Figura II. 1 e as Tabelas II. 1.

Espécimes testemunhas foram depositados na coleção entomológica do Laboratório de Mirmecologia da CPDC e alguns indivíduos adultos foram conservados em etanol absoluto a -20°C no laboratório de Citogenética, Universidade Estadual de Santa Cruz em Ilhéus, BA, Brasil.

Tabela II. 1: Locais de coleta e coordenadas geográficas.

Nº	Localidade de Coleta (Identificação do ninho)	Espécie	Coordenadas geográficas	
			Latitude	Longitude
1	Moreno - PE (N5)	<i>P. gilberti</i>	8°06'32" S	35°05'44" O
	Moreno - PE (N6)	<i>P. gilberti</i>	8°06'51" S	35°07'05" O
2	Valença (Fazenda São João) - BA	<i>P. gilberti</i>	13°29'12" S	39°09'44" O
	Valença (Fazenda Exedito) - BA	<i>P. stigma</i>	13°20'10" S	39°10'14" O
3	Igrapiúna (Res. Michelin) - BA	<i>P. gilberti</i>	13°38'45" S	39°10'14" O
4	Itajuípe (CEPLAC) – BA	<i>P. gilberti</i>	14°41'08" S	39°22'01" O
5	Ilhéus (CEPLAC) – BA (N1)	<i>P. stigma</i>	14°47'08" S	39°13'20" O
	Ilhéus (CEPLAC) – BA (N2)	<i>P. stigma</i>	14°47'08" S	39°13'20" O
	Ilhéus (CEPLAC) – BA (N3)	<i>P. stigma</i>	14°47'08" S	39°13'20" O
6	Una (Fazenda Anarauna)– BA.	<i>P. gilberti</i>	15°12'40" S	39°11'05" O
7	Belmonte (CEPLAC) – BA	<i>P. gilberti</i>	15°51'18" S	38°52'47" O
8	Monte Pascoal – BA	<i>P. gilberti</i>	16°45'00" S	39°32'05" O
9	Porto Seguro (ESPAB) - BA	<i>P. gilberti</i>	16°25'09" S	39°09'40" O
10	Sooretama – ES	<i>P. gilberti</i>	19°08' 50" S	40°04'14" O
11	Jaci Párana – RO	<i>P. stigma</i>	9°15'52" S	64°23'59" O
12	Madre de Dios – PERU (N16) (#)	<i>P. gilberti</i>	11°54'11" S	70°52'03" O
	Madre de Dios – PERU (N19) (#)	<i>P. gilberti</i>	11°45'50" S	70°46'14" O
13	Milagres – BA (#)	<i>Neoponera bucki</i>	12°55'01" S	39°45'16" O
14	Santa Teresa (Reserva Biológica Augusto Ruschi) - ES	<i>Dinoponera lucida</i>	19°55'09" S	40°36'49" O
	Ilhéus (CEPLAC) – BA	<i>Platythyrea punctata</i>	14°45'04" S	39°14'50" O
15	Ilhéus (UESC)-BA	<i>Neoponera unidentata</i>	14°45'01" S	39°13'48" O
16		<i>Pachycondyla crassinoda</i>	14°40'47" S	39°10'12" O
		<i>Leptogenys arcuata</i>	14°40'47" S	39°10'08" O
		<i>Pachycondyla harpax</i>	14°41'47" S	39°14'04" O
		<i>Neoponera verreae</i>	14°47'08" S	39°13'20" O

(N*) = Identificação da colônia; (#) = Material de doação; PE=Pernambuco; BA=Bahia; RO=Rondônia; ES=Espírito Santo



Figura II. 1: Mapa mostra os locais coletados. Os pontos marrons representam os municípios onde foram realizadas as coletas nos estados de PE=Pernambuco; BA=Bahia, RO=Rondônia; ES=Espírito Santos.

II. 2. 2. Extração e amplificação de DNA

O DNA total foi extraído segundo dois métodos de extração. No método destrutivo segundo protocolo de Han & McPheron (1997) foram utilizados o tórax e/ou as pernas dos espécimes conservados em etanol absoluto. E o método não destrutivo foi utilizado para os exemplares emprestados de coleções, usando *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Qiagen). Para a extração de DNA foram utilizados três indivíduos de cada espécie, oriundos de localidades e colônias diferentes.

Os genes COI e 16S utilizados neste trabalho foram selecionados com base nas informações obtidas sobre o nível de variação em estudos anteriores realizados para comparações interespecíficas com Hymenoptera.

Os fragmentos de DNA foram amplificados através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando o *kit Taq DNA polimerase* (Promega).

Foram utilizados dois pares de *primers*, para amplificação parcial dos genes mitocondriais Citocromo Oxidase I (COI) (LCO-1490 5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG 3' e HCO-2198 5' TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA 3') (FOLMER et al., 1994), realizando desnaturação inicial a 95°C, 3 min., 35 ciclos de amplificação (95°C, 30 seg.; 45°C, 1,0 min e 72°C, 1,0 min), seguido por um passo de extensão final a 72°C durante 7 min. e rDNA 16S (LR13943F 5' CACCTGTTTATCAAAAACAT 3' e 16SR 5' CGTCGATTTGAACTCAAATC 3') (COSTA, 2003), realizando desnaturação inicial a 94°C, 3 min e 40 ciclos de amplificação (94°C, 1 min; 47°C, 1 min e 30 seg. e 64°C, 1 min e 30 seg.), seguido por um passo de extensão final a 64°C durante 7 min. As amplificações de PCR foram realizadas em 25 µl volume final de reação, utilizando 2,5 µl de tampão de reação, 3,2 µl MgCl₂, 2,5 µl de mistura de dNTPs (concentração final de 200 pM cada), 1 µl de cada um dos *primers*, 0,3 µl de Taq polimerase (Promega), 3 µl de DNA e 11, 5 µl água estéril. A amplificação dos fragmentos de DNA foi verificada em gel de agarose 1%.

II. 2. 3. Purificação e sequenciamentos dos fragmentos de DNA

A purificação dos produtos de PCR foi feita com as enzimas Exonuclase I (EXO1) e Fosfatase Alcalina de Camarão (SAP) (Fermentas). Os fragmentos amplificados e purificados foram sequenciados no sequenciador (Mega BACE 1000), no Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica da Universidade Estadual Paulista e utilizando os mesmos *primers* usados na reação de amplificação. Os fragmentos foram sequenciados em ambas as fitas.

II. 2. 4. Alinhamentos das seqüências e análise filogenética

As seqüências foram alinhadas utilizando o programa Clustal W Multiple Alignment (THOMPSON et al., 1994) implementado no programa Bioedit versão 7.0.9.0 (HALL, 1999) e editadas manualmente no programa MEGA 5.2 (TAMURA et al., 2011). As análises filogenéticas foram realizadas no programa MEGA 5.2 (TAMURA et al., 2011) pelos métodos Máxima Verossimilhança (ML), Neighbor-Joining (NJ) e Máxima Parcimônia (MP). O suporte dos ramos foi estimado pelo método de *bootstrap* de 1000 replicações e distância de Kimura-2-parâmetros. No grupo externo foram incluídas espécies pertencentes aos gêneros *Pachycondyla*, *Neoponera*, *Dinoponera*, *Platythyrea* e *Leptogenys* (Tabela II. 1).

II. 3. RESULTADOS

Foram coletadas 32 colônias das duas espécies, sendo cinco colônias identificadas como *P. stigma* e 27 colônias de *P. gilberti* e incluindo três espécimes obtidos da coleção Instituto Nacionais de Pesquisa da Amazônia (INPA). Dentre os 14 pontos de coleta, dois estão localizados na Floresta Amazônica e 12 na Mata Atlântica.

O alinhamento das seqüências dos fragmentos de gene COI permitiu gerar uma matriz com 606 caracteres, com 342 sítios variáveis e 214 sítios informativos para análise de parcimônia. Entre as espécies de *Pseudoponera*, o maior nível de divergência foi constatado entre *P. stigma* (N1), do município de Ilhéus-BA e *P. gilberti*, de Monte Pascoal-BA, (26, 3%). A composição

nucleotídica do gene COI entre as espécies relacionadas foi: A + T= 69,7% e C + G = 30,3%.

A matriz para rDNA 16S apresentou 589 caracteres, 325 sítios variáveis e 216 sítios informativos para parcimônia. O maior nível de divergência foi constatado entre *P. stigma*, de Ilhéus-BA (N2), e *P. gilberti*, de Itajuípe-BA (19,7%). A composição nucleotídica das sequências entre as espécies aqui relacionadas foi de A + T= 77,9% e C+ G = 22,1%.

A matriz concatenada dos dados do gene COI e rDNA 16s foi constituída por 25 sequências, das quais 12 para *P. gilberti*, cinco para *P. stigma* e oito para o grupo externo. Esta matriz foi composta por 1152 caracteres, com 644 sítios variáveis e 406 informativos para parcimônia.

II. 3. 1. Análise filogenética baseada no Citocromo Oxidase I (COI)

Na árvore gerada através do método de Máxima Verossimilhança (MV), as espécies de *Pseudoponera* formaram um grupo monofilético. O clado I é constituído por espécimes de *P. gilberti*, no qual se separam em grupos distintos em espécimes coletadas na Mata Atlântica e espécimes da Floresta Amazônica. A amostra de *P. stigma* se separa de *P. gilberti* e *N. bucki* é posicionada como grupo irmão de *Pseudoponera*.

A árvore gerada através do método de Neighbor-Joining (NJ) apresenta topologia similar da árvore reconstruída com o método MV.

Na análise de Máxima Parcimônia (MP), foram obtidas nove árvores mais parcimoniosas com 481 passos. A árvore de consenso é representada na Figura II. 2 e mostrou topologia similar a MV e NJ, com clado I formado por espécimes de *P. gilberti* apresentando um valor de *bootstrap* de 99%. Único exemplar de *P. stigma* incluído nas análises com a região COI agrupou com *Pachycondyla crassinoda*, formando um clado, porém com baixo suporte.

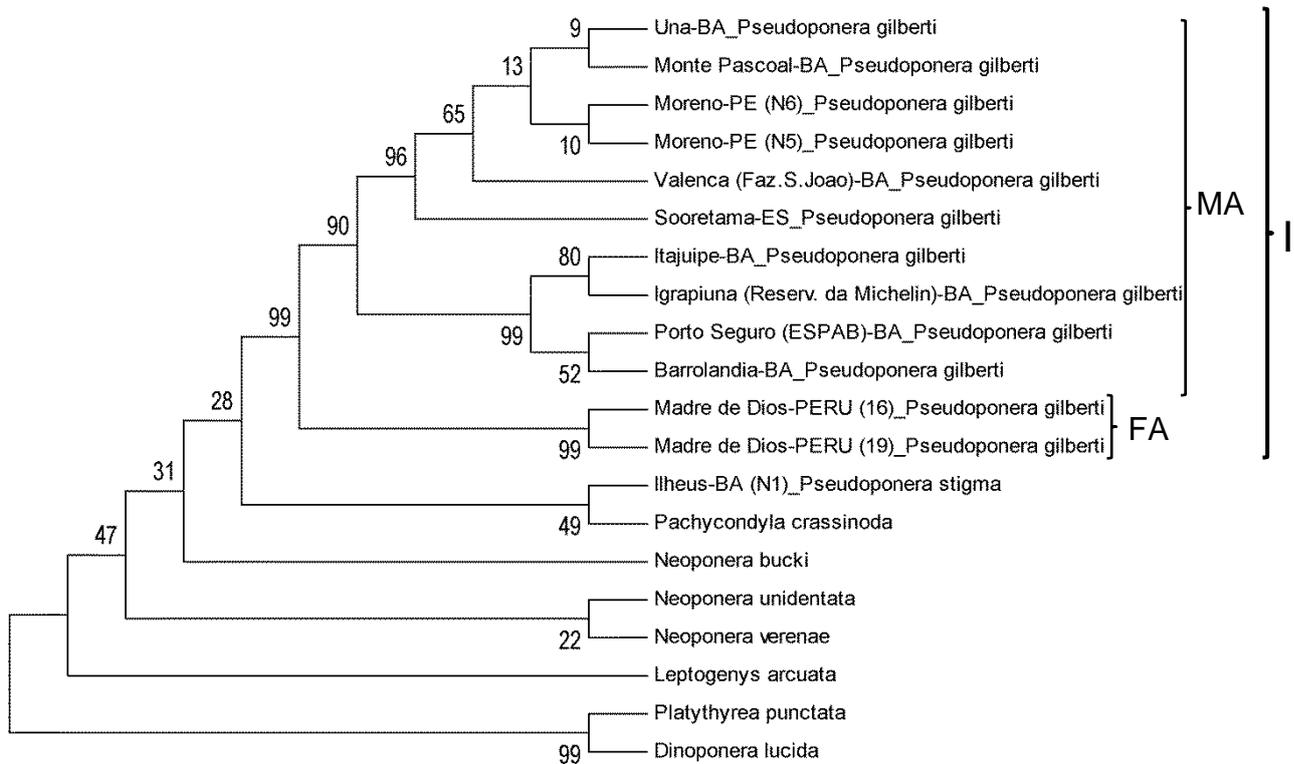


Figura II. 2: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para o gene COI. Os valores de *bootstrap* são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*. MA: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônica.

II. 3. 2. Análise filogenética baseada no 16S rDNA

A matriz gerada apresenta 325 sítios variáveis e 216 sítios informativos para análise de Máxima Parcimônia. Esta matriz incluiu uma maior amostragem de *P. stigma* e, assim como no fragmento COI, os diferentes métodos de análise deram resultados similares, considerando os principais agrupamentos formados.

A árvore de Máxima Verossimilhança apresentou o clado I contendo espécimes de *P. gilberti*, tendo as amostras da região Amazônica separadas na base. O clado II agrupa os espécimes de *P. stigma* com suporte de *bootstrap* de 99%. De forma similar, ao que ocorre com *P. gilberti*, o espécime de *P. stigma* da região Amazônica posiciona-se basalmente em relação às amostras da Mata Atlântica. O único indivíduo sequenciado de *Neoponera bucki* é posicionado junto com *Leptogenys arcuata*, formando um grupo próximo de *Pseudoponera*.

A árvore gerada através do método de Neighbor-Joining (NJ) a partir do gene 16S apresentou topologia similar á árvore construída com o método MV.

A árvore consenso de máxima parcimônia está apresentada na Figura II. 3, baseada nas 30 árvores mais parcimoniosas com 470 passos encontradas. Foi observada topologia similar as de MV e NJ. *N. bucki* é posicionada como grupo irmão de *Pseudoponera*, seguido de *L. arcuata*.

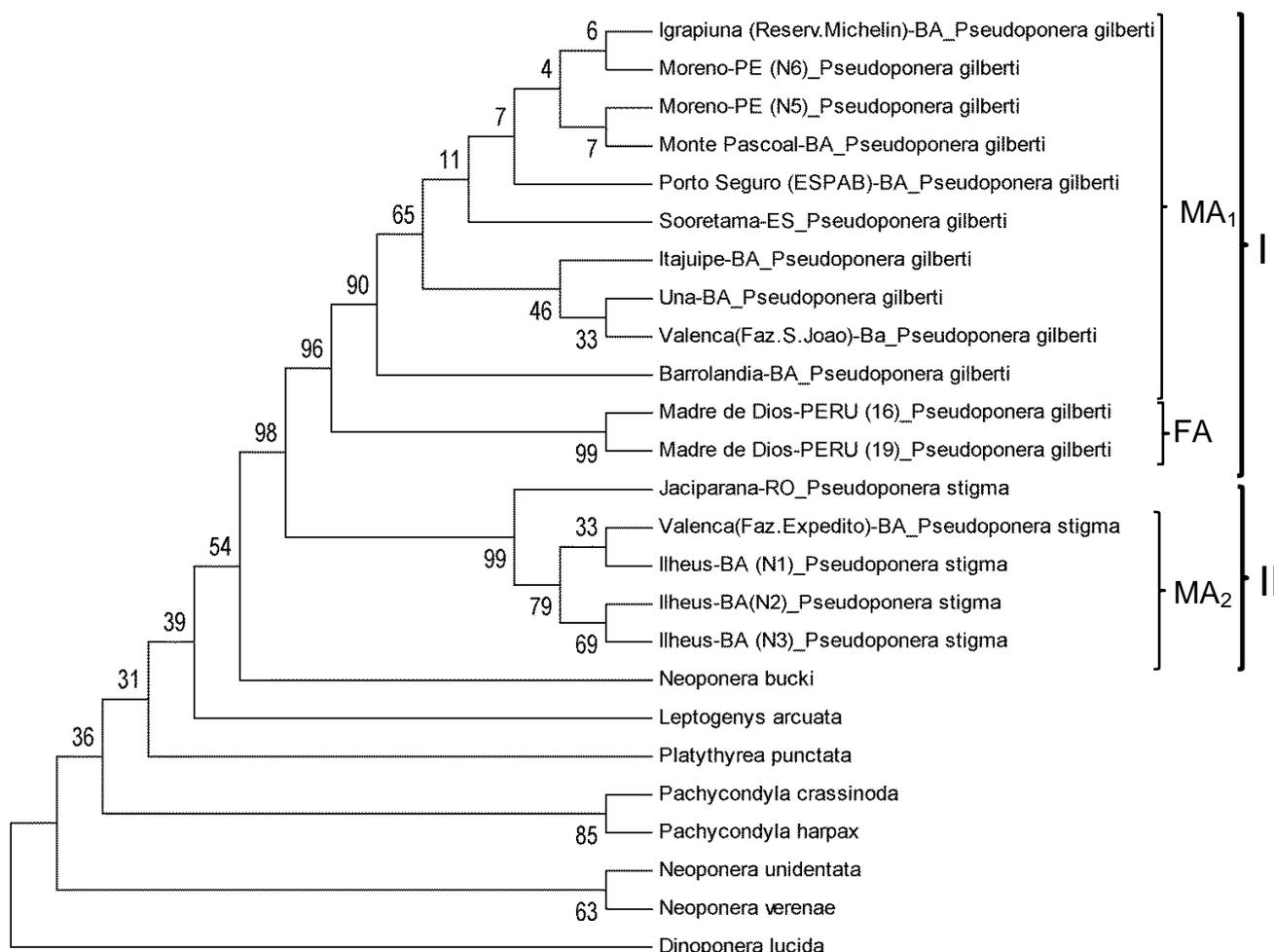


Figura II. 3: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para o gene 16S rDNA. Os valores de *bootstrap* para 1000 replicações são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*; Clado II: espécimes de *P. stigma*. MA₁ e MA₂: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônia.

II. 3. 3. Análise filogenética dos dados concatenados dos genes COI e 16S DNAr

A matriz dos dados concatenados apresenta 644 sítios variáveis com 406 informativos para a análise de Máxima Parcimônia (MP).

A árvore gerada pelo método de Máxima Verossimilhança manteve *Pseudoponera* monofilético. A relação entre os grupos da Floresta Amazônica e da Mata Atlântica confirmam os resultados das árvores dos genes COI e 16S separadamente. É possível verificar uma clara separação do clado II formado por espécimes de *P. stigma* em relação a *P. gilberti*. O espécime de *N. bucki* juntamente com *Leptogenys arcuata* é posicionado basalmente como grupo irmão de *Pseudoponera*.

A árvore gerada através do método de Neighbor-Joining tem topologia similar a MV.

A análise de Máxima Parcimônia resultou em 47 árvores mais parcimoniosas e com 908 passos. A árvore consenso (Figura II. 4) mostra uma grande similaridade com as demais geradas por MV e NJ.

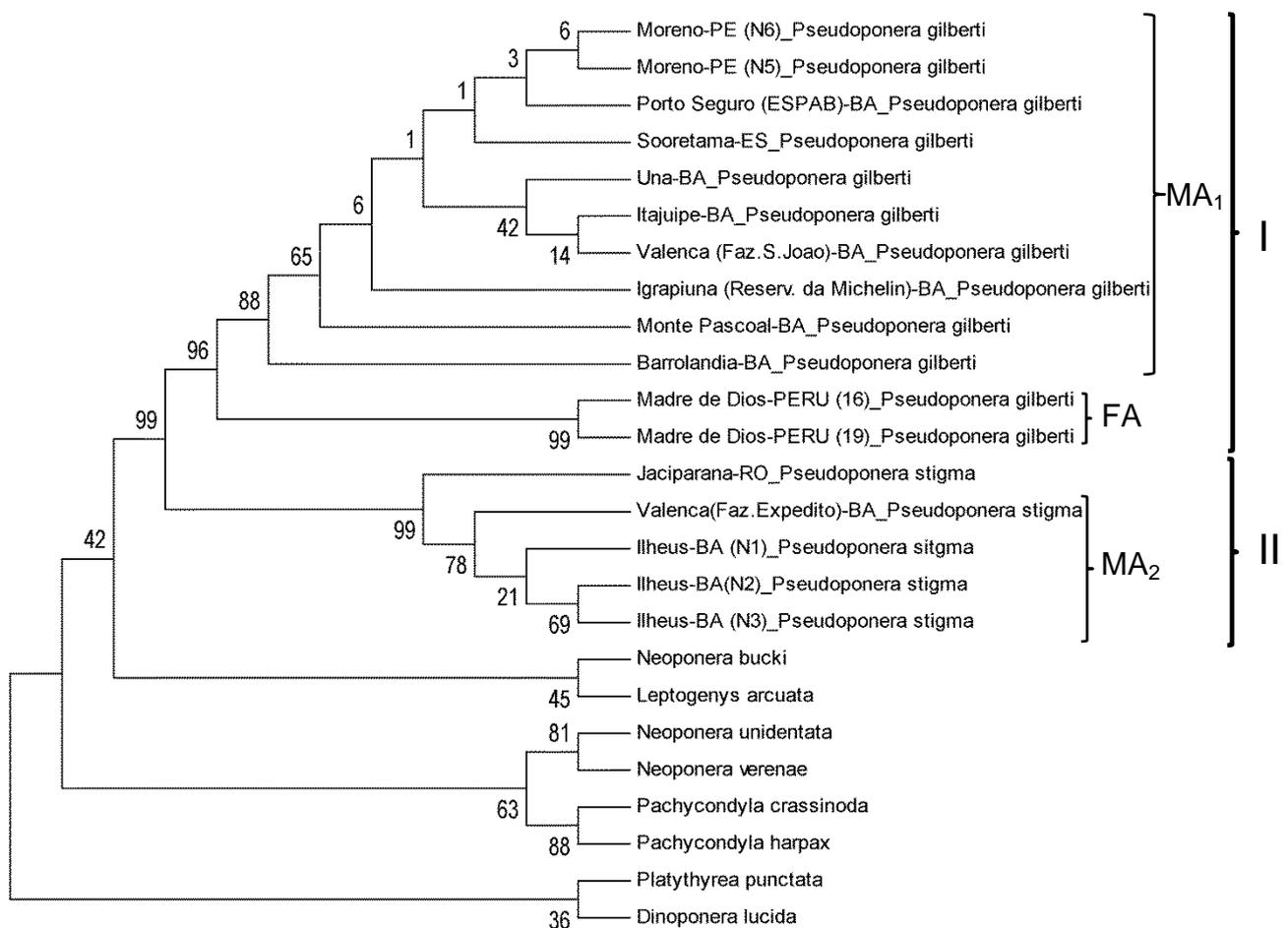


Figura II. 4: Árvore gerada pelo método de Máxima Parcimônia para dos dados concatenados. Os valores de *bootstrap* para 1000 replicações são apresentados juntos aos nós. Clado I: espécimes de *P. gilberti*; Clado II: espécimes de *P. stigma*. MA: clado dos espécimes da Mata Atlântica; FA: clado dos espécimes da Floresta Amazônica.

II. 4. DISCUSSÃO

As árvores filogenéticas geradas mostraram topologia similar para os três métodos utilizados. As árvores originadas através do gene 16S DNAr incluíram maior quantidade de amostras de *P. stigma* e mostram *P. stigma* e *P. gilberti* mais próximas formando um clado, tendo como possível grupo irmão *N. bucki* ou *N. bucki* + *Leptogenys arcuata*. Assim, estes resultados corroboram a revisão feita por Schimdt & Shattuck (2014), em que o complexo *stigma* é considerado polifilético. Isso é reforçado através dos caracteres morfológicos das espécies *P. stigma* e *P. gilberti*, que diferem muito de *N. bucki*, tanto no tamanho corpóreo, formato e número de dentes mandibulares, formato dos olhos e pecíolo.

Neste estudo, a proximidade dessa espécie com *L. arcuata* chama atenção pelo clado formado por *N. bucki* e *L. arcuata* em algumas análises. Este resultado é consistente com a suposição de Borgmeier (1927), que descreveu *N. bucki* como *Leptogenys bucki*. Atualmente, a taxonomia de *N. bucki* continua duvidosa. A presença de garras tarsais pectinadas é uma característica sinapomórfica da maioria das espécies de *Leptogenys*, mas nem todas apresentam esta característica (LATTKE, 2011; SCHMIDT & SHATTUCK, 2014; com. pess. LACAU). Espécimes de *N. bucki* não apresentam este carácter, deixando dúvidas sobre esta aproximação com *L. arcuata*. Estudos filogenéticos e taxonômicos mais completos com enfoque nestas duas espécies podem esclarecer melhor esta questão, sendo que *N. bucki* é classificada em um gênero mal resolvido e formado por caracteres diversos.

Entretanto, *P. gilberti* e *P. stigma* formam um clado com suporte elevado em todas as árvores de rDNA 16S e dados concatenados, 98% e 99% de *bootstrap*, respectivamente. Análises morfológicas apontam grande similaridade entre estas duas espécies (EMERY, 1900; 1911; WILSON, 1958; KEMPF, 1960; MACKAY & MACKAY, 2010). As descrições morfológicas de larvas realizadas também levaram as várias combinações e similaridades: *Euponera (Trachymesopus) stigma* similar a *Mesoponera constricta* (WHEELER & WHEELER, 1952), *Mesoponera gilberti* a *Mesoponera constricta* (WHEELER & WHEELER, 1971) e *Mesoponera stigma* a *Mesoponera*

constricta (WHEELER & WHEELER, 1976) e tornaram a taxonomia dessas duas espécies bastante confusas. Sabe-se que essas duas espécies apresentam pupas de coloração amarela marcante, sendo diferente das demais encontradas na tribo Ponerini (WHEELER & WHEELER, 1952).

A distinção entre essas duas espécies também foi marcante em análise citogenética. Segundo Mariano et al. (2012), essas duas espécies apresentam cariótipos diferentes, sendo *P. gilberti* apresenta cariótipo com 10 cromossomos metacêntricos e dois acrocêntricos e *P. stigma* exibe 12 metacêntricos.

Estudos integrativos anteriores foram desenvolvidos para delimitar espécies de formigas, como visto nos estudos de Kolmer et al. (2002) baseados em aspectos comportamentais e genéticos, Lucas et al. (2002) fundamentados em dados moleculares, morfométricos e bioquímicos, e Cristiano et al. (2013) integrando dados moleculares, morfológicos e citogenéticos. Assim, estes estudos afirmam a consistência dos dados integrados para resolver taxonomias mal definidas.

Neste estudo verificou-se a divergência intraespecífica entre Mata Atlântica e Floresta Amazônica em ambas as espécies *P. gilberti* e *P. stigma*. Esta distinção pode refletir a história evolutiva destas espécies, por ser consistente com o isolamento por distâncias geográficas. As duas espécies apresentaram populações que diferiram em caracteres morfológicos secundários no padrão de coloração e tamanho, sendo estes insuficientes para indicar uma nova espécie. Uma análise filogeográfica com coletas mais amplas deve ser foco de futuros estudos, com a finalidade de verificar o processo histórico responsável pela distribuição geográfica atual.

A relação filogenética aqui apresentada reforça as conclusões de estudos morfológicos anteriores (SCHIMDT & SHATTUCK, 2014). A distinção de *P. gilberti* e *P. stigma* ficou bem estabelecida. A relação próxima de *L. arcuata* e *N. bucki* tem moderado suporte, bem como o seu posicionamento basal e como grupo próximo de *Pseudoponera*.

II. 5. REFERÊNCIAS

- ASTRUC, C.; JULIEN, J. F.; ERRARD, C.; LENOIR, A. Phylogeny of ants (Formicidae) based on morphology and DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 31: 880-893. 2004.
- AYALA, F.J., WETTERER, J.K., LONGINO, J.T., HARTL, D.L., 1996. Molecular phylogeny of Azteca ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of Cecropia trees. **Mol. Phylogenet. Evol.** 5, 423–428. 1996.
- BACCI, M.; SOLOMON, S. E.; MUELLER, U. G.; MARTINS, V. G.; CARVALHO, A. O. R.; VIEIRA, L. G. E.; SILVA-PINHATI, A. C. O. Phylogeny of leafcutter ants in the genus *Atta* Fabricius (Formicidae: Attini) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 51:427-437. 2009.
- BERNASCONI, C.; CHERIX, D.; SEIFERT, B. & PAMILO, P. Molecular taxonomy of the *Formica rufa* group (red wood ants) (Hymenoptera: Formicidae): a new cryptic species in the Swiss Alps? **Myrmecological News**, 14: 37-47. 2011.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S. et al. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, vol. 22, no. 3, pp. 148–155, 2006.
- BOLTON, B. A new general catalogue of the ants of the world. **Cambridge, Mass.: Harvard University Press**, 504. 1995.
- BOLTON, B. Synopsis and classification of Formicidae. The American Entomological Institute. **Gainesville, FL**. 370p, 2003.
- BORGMEIER, T. O. F. M. Algumas novas formigas brasileiras. **Archivos do Museu Nacional**, vol. XXIX: 9. 1927.
- BRADY, S. G.; SCHULTZ, T. R.; FISHER, L. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. Proceedings of the National Academy of **Science**, 103(45): 00–001. 2006.
- BROWN, W. L. Remarks on the internal phylogeny and subfamily classification of the family Formicidae. **Insects Sociaux**, 1: 21-31. 1954.
- BROWN, W. L., Jr. [Untitled. Taxonomic changes in *Pachycondyla* attributed to Brown.]. Pp. 302-311 in: Bolton, B. 1995b. A new general catalogue of

- the ants of the world. **Cambridge, Mass.: Harvard University Press**, 504 pp. 1995.
- CLARK, J. New Formicidae, with notes on some littler-known species. *Proceedings of the Royal society of Victoria* 43: 2-25. 1930.
- COSTA, M. A.; DEL LAMA, M. A.; MELO, G. A.; SHEPPARD, W. S. Molecular phylogeny of the stingless bees (Apidae, Apinae, Meliponini) inferred from mitochondrial 16S rDNA sequences. ***Apidologie***, v. 34, n. 1, p. 73-84, 2003.
- CRISTIANO, M. P.; CARDOSO, D. CI.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Cytogenetic and Molecular Analyses Reveal a Divergence between *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) and Other Congeneric Species: Taxonomic Implications. ***Plos one***, 8 (3): 1- 9. 2013.
- CROZIER, R.H.; DOBRIC, N.; IMAI, H.T.; GRAUR, D.; CORNUET, J.-M.; TAYLOR, R.W.; Mitochondrial-DNA sequence evidence on the phylogeny of Australian jack-jumper ants of the *Myrmecia pilosula* complex. ***Mol. Phylogenet. Evol.*** 4, 20–30. 1995.
- EMERY, C. Studi Sulle Formiche della fauna neotropical .XVII-XXV. ***Bullettino della Società Entomologica Italiana***, 28: 33-107. 1896.
- EMERY, C. Formicidarum species novae vel minus cognitae in collectione Musaei Nationalis Hungarici quas in Nova-Guinea, colonia germanica, collegit L. Biró. Publicatio secunda. ***Természetráji Füzetek***, 23:310-338. 1900.
- EMERY, C..Hymenoptera, Fam. Formicidae, Subfam. Ponerinae.In: Wytsman, P. (Eds.). ***Genera Insectorum, Bruxelles***, 118: 1- 125. 1911.
- FABRICIUS, J. C. Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus. Brunsvigae, ***Apud Carolum Reichard***, 30pp. Ants - 395-428. 1804.
- FEITOSA, R. dos S. M. ***Revisão taxonômica e análise filogenética de Heteroponerinae (Hymenoptera; Formicidae)***. Tese de doutorado 311f. – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP. 2011.
- FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. DNA *primers* for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I

- from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 3 (5): 294-299. 1994.
- HAN, H.; MCPHERON, B.A. Molecular phylogenetic study of Tephritidae (Insecta: Diptera) using partial sequences of the Mitochondrial 16S Ribosomal DNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 7, p. 17-32, 1997.
- HALL, T.A. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. **Nucl.acids.Symp.ser.v.41,p.95-98**. 1999.
- KAMBHAMPATI, S; SMITH, P. T. PCR primers for the amplification of four insect mitochondrial gene fragments. **Insect Molecular Biology**, 4: 233-236. 1995.
- KELLER, R. A. A Phylogenetic analysis of ant Morphology (Hymenoptera: Formicidae) with Special Reference to the Poneromorph Subfamilies. **BioOne**, 355: 1-90. 2011.
- KEMPF, W. W. As formigas do gênero *Pachycondyla* Fr. Smith no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, vol. 10, pp. 189–204, 1960.
- KEMPF, W. W. Miscellaneous studies on neotropical ants II (Hym. Formicidae). **Studia Entomologica**, vol. 5, fasc. 1-4, 1-39. 1962.
- KOLMER, K., HÖLLDOBLER, B. & HEINZE, J. Colony and population structure in *Pachycondyla* cf. *inversa*, a ponerine ant with primary polygyny. **Ethol. Ecol. Evol.** 14, 157–164. 2002.
- LATTKE, J. E. Revision of the New world species of the genus *Leptogenys* Roger (Insecta: Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Arthropod Systematics & Phylogeny**, 69 (3): 127-264. 2011.
- LUCAS, C.; FRESNEAU, D.; KOLMER, K.; HEINZE, J.; DELABIE, J.H.C.; Pho, B. 2002. A multidisciplinary approach to discriminating different taxa in the species complex *Pachycondyla villosa* (Formicidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 75: 249-259. 2002.
- MACKAY, W; MACKAY, E. The Systematics and Biology of the New World Ants of the Genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae). **The Edwin Mellen Press**, Lewiston, NY, USA, 2010.
- MARIANO, C. dos S. F.; POMPOLO, S. das G.; SILVA, J. G.; DELABIE, J. H. Ch. Contribution of Cytogenetics to the Debate on the Paraphyly of

- Pachycondyla* spp. (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). **Psyche**, 9. 2012.
- MOREAU, C. S.; BELL, D. Ch.; VILA, R.; ARCHIBALD, B.; PIERCE, N. Phylogeny of the Ants: Diversification in the Age of Angiosperms. **Science**, 312: 101-103. 2006.
- MOREAU, C. S. Unraveling the evolutionary history of the “hyperdiverse” ant genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). **Mol. Phylogenet. Evol.** 48:224–239. 2008.
- ROGER, J. Die neu aufgeführten Gattungen und Arten meines Formiciden-Verzeichnisses nebst Ergänzung einiger früher gegebenen Beschreibungen. **Berliner Entomogische Zeitschrift** 7: 131-214. 1863.
- ROSS, K.G., SHOEMAKER, D.D. Species delimitation in native South American Wre ants. *Mol. Ecol.* 14, 3419–3438. 2005.
- SCHMIDT, C. A. Molecular phylogenetics of ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). **Zootaxa** 3647 (2): 201-250. 2013.
- SCHMIDT, C. A.; SHATTUCK, S. O. The Higher Classification of the Ant Subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a Review of Ponerinae Ecology and Behavior. **Zootaxa**, 1: 1-242. 2014.
- SEIFERT, B. Cryptic species in ants (Hymenoptera: Formicidae) revisited: we need a change in the alpha-taxonomic approach. **Myrmecological News**, vol. 12, pp. 149–166, 2009.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, 28: 2731-2739. 2011.
- THOMPSON, J. D.; et al. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Res.** ;22:4673-4680. 1994.
- WHEELER, G. C; WHEELER, J. The ant larvae of the subfamily Ponerinae - **Part I. American Midland Naturalist**, 48:111-144. 1952.
- WHEELER, G. C. & WHEELER, J. Ant larvae of the Subfamily Ponerinae: Second Supplement. **Desert Research Institute**. Vol. 64 (6): 1197-1218. 1971.

WHEELER, G. C.; WHEELER, J. Supplementary studies on ant larvae: Ponerinae. **Transactions of the American Entomological Society**, 102:41-64. 1976.

WILSON, E. O. Studies on the ant fauna of Melanesia III. Rhytidoponera in western Melanesia and the Moluccas. IV. The tribe Ponerini. **Cambridge, mass., USA**. Vol. 119 (4): 304-371. 1958.

CAPÍTULO III

MORFOLOGIA E TAXONOMIA DE *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera gilberti* (FORMICIDAE: PONERINAE)

RESUMO

MORFOLOGIA E TAXONOMIA DE *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera gilberti* (FORMICIDAE: PONERINAE)

A descrição de *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) é antiga e carece de detalhes. Hoje, esta espécie é nomeada a partir de comparações morfológicas e biológicas. Devido a isso, *P. stigma* é geralmente confundida com *Pseudoponera gilberti*. Os táxons são redescritos e as delimitações mais claras entre essas duas espécies são apresentadas.

Palavra-chave: Região Neotropical, revisão taxonômica, biodiversidade.

ABSTRACT

MORPHOLOGY AND TAXONOMY OF *Pseudoponera stigma* e *Pseudoponera gilberti* (FORMICIDAE: PONERINAE)

The description of *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804) is old and lacks details. Today, this species is named from morphological and biological comparisons. Due to this, *P. stigma* is often confused with *Pseudoponera gilberti*. Taxa are redescribed and more clear delimitations between these two species are presented.

Keyword: Neotropics, taxonomic revision, biodiversity.

III. 1. INTRODUÇÃO

Pseudoponera apresenta uma história taxonômica confusa e com várias combinações genéricas (SCHMIDT & SHATTUCK, 2014). Este gênero foi descrito por Emery (1900) como subgênero de *Pachycondyla*, com espécie tipo *Ponera quadridentata* (Smith, 1859). Hoje, sua espécie tipo é *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804). Tem como sinônimo júnior *Trachymesopus* Emery, 1911, e foi posteriormente sinonimizado com *Pachycondyla* Smith, 1858 (devido à sinonimização das espécies tipo) (BOLTON, 1995).

Mackay & Mackay (2010), na revisão feita sobre espécies neotropicais de *Pachycondyla* agruparam espécies antes classificadas no subgênero *Pseudoponera* no complexo *stigma*.

Na revisão proposta por Schmidt & Shattuck (2014), baseada em estudos morfológicos e moleculares, a maior parte das espécies do complexo *stigma* (*sensu* Mackay & Mackay, 2010) foram realocadas em *Pseudoponera*. Agora, este gênero é formado por seis espécies, de tamanho pequeno a médio e de hábitos crípticos: *Pseudoponera cognata* (Emery, 1896), *Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960), *Pseudoponera gilloglyi* (Mackay & Mackay, 2010), *Pseudoponera stigma* (Fabricius, 1804), *Pseudoponera succedanea* (Roger, 1863) e *Pseudoponera pachynoda* (Clark, 1930).

As espécies desse gênero possuem ampla distribuição na região Neotropical, desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, e com registro no Velho Mundo, no oeste da Austrália e na Ilha de Aru, Indonésia (MACKAY & MACKAY, 2010; WETTERER, 2012; SCHMIDT & SHATTUCK, 2014). A espécie tipo, *P. stigma*, possui o maior registro de distribuição (WETTERER, 2012), e isso pode justificar a maior ocorrência de sinônimos desde sua descrição (com. pess. FEITOSA).

Por outro lado, *P. stigma* apresenta uma descrição antiga e não detalhada, induzindo a ser confundida com outras espécies do mesmo gênero. Por exemplo, *P. stigma* e *P. gilberti* têm sido, geralmente, confundidas por muitos pesquisadores. Os únicos estudos comparativos entre essas duas espécies foram apresentados por Kempf (1962), Mackay & Mackay (2010) e Mariano et al. (2012).

Este estudo tem como objetivo oferecer uma redescrição para *P. stigma* e uma delimitação mais clara entre *P. stigma* e *P. gilberti*.

III.2. MATERIAIS E MÉTODOS

III.2. 1. Material biológico

O material examinado está listado após cada descrição. A maior parte deste material está depositada na coleção CPDC, mas também foi obtido por empréstimos de outras instituições. A lista abaixo mostra as respectivas abreviações, segundo Brandão (2000), seguidas do nome completo da instituição, localização e curador responsável:

- **CPDC:** Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, BA, Brasil – Dr. Jacques H. C. Delabie;
- **MZSP:** Museu de Zoologia de São Paulo, São Paulo, SP – Dr. Carlos Roberto F. Brandão;
- **ZMUC:** Museum of Zoology University of Copenhagen, Copenhagen, Dinamarca – Dr. Lars Vilhemsen;
- **LSBA:** Laboratório de Biossistemática Animal, Itapetinga, BA, Brasil – Dr. Sébastian Lacau.

Além do material biológico examinado diretamente nas coleções visitadas, diversos espécimes, notadamente tipos, foram analisados a partir de fotomicrografias de alta resolução. Estas originaram por partes obtidas em bases iconográficas disponibilizadas em mídia eletrônica (ANTWEB e Smithsonian National Museum of Natural History), ou por contribuição de curadores, que enviaram fotos do holótipo de *Pseudoponera stigma* do Museum of Zoology University of Copenhagen (ZMUC), e os tipos de *Pseudoponera gilberti*, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZSP). Os holótipos foram examinados por imagens em razão das instituições restringirem o envio dos exemplares.

Cada espécime recebeu um número de registro formal único, código numérico provisório, a fim de manter a base de dados pronta para uma

eventual atualização ou até que o presente estudo seja formalmente publicado. Os dados de cada morfoespécie foram registrados numa planilha do Microsoft Excel 2010.

III. 2. 2. Identificação taxonômica

Para identificação taxonômica dos exemplares foram utilizadas informações disponíveis na literatura especializada, e notadamente os trabalhos de Mackay & Mackay (2010), Bolton (2003, 2012), Schmidt (2013), Schmidt & Shattuck (2014), além das descrições originais de cada espécie.

Como proposto por Bolton (2007), quando foi possível, os morfotipos foram sistematicamente comparados com os tipos dos táxons revisados, seja diretamente ou a partir de fotomicrografias de alta resolução.

III. 2. 3. Descrição morfológica

A revisão dos táxons inclui a redação sequencial dos seguintes itens: nome latino válido, com autoria e ano de descrição; citação das figuras de referência; história nomenclatural do táxon; etimologia; diagnose; descrição (morfometria e descrição dos morfos); material examinado; comentários gerais; distribuição geográfica; e história natural.

A descrição morfológica dos espécimes inicia-se pela parte anterior do corpo até a posterior, sequencialmente por cada tagma, segmento e seus apêndices, e cada segmento é descrito na sequência de análise territorial ântero-posterior, dorso-ventral e lateral. Os caracteres de esculturação, coloração e pilosidade são apresentados nesta ordem separados em tópicos.

III. 2. 4. Terminologia

A terminologia usada para descrição da morfologia externa das espécies seguiu Bolton (1994), Goulet & Huber (1993), Wild (2002; 2005), Mackay & Mackay (2010), Keller (2011), Fernandes et al, (2014) e Schmidt & Shattuck

(2014), assim, como o site Paraguai Ant Collection (<http://projects.biodiversity.be/ants>).

A rainha reprodutiva foi designada como “*gine*”, termo proposto por De Andrade & Baroni-Urbani (1999). Quando necessário, as estruturas morfológicas foram designadas pelo seu nome em *latim*, evitando eventuais erros decorrentes da tradução para o português.

Para a descrição dos padrões de pilosidade seguiu o termo proposto por Wilson (1955) e Kugler (1994). O padrão de coloração foi aqui designado como: monocromático (uma tonalidade de cor) e dicromático (duas tonalidades de cor). A esculturação seguiu o protocolo de Harris (1979) e Eady (1968). Para informar o grau de densidade das pontuações, foi indicada uma medida caracterizando a distância entre elas, sendo considerada a razão entre o diâmetro próprio da pontuação e a distância entre duas pontuações, a fórmula consiste em: “X diâmetro” / intervalo (Xd/i). Foram observados seguintes padrões esculturais: Pontuação e Fóvea, Carinas e Carínulas e Rugas e Rúgulas.

III.2. 5. Morfometria

Todas as medidas morfométricas foram feitas com um microscópio de medida Carl Zeiss com uma precisão de 0,01 mm. As imagens do tipo e de alguns espécimes foram medidas através do programa TPS DIG versão 1.26 (ROHLF, 2004). Estas foram apresentadas em milímetros, e as definições são provenientes em grande parte de Wild (2005) e Fernandes et al, (2014).

LCa = *Largura da Cabeça*: em vista dorsal, a largura máxima da cabeça, medido de lado a lado.

CCa = *Comprimento da Cabeça*: em vista dorsal, distância máxima do ponto médio da margem anterior do clipeo ao ponto médio da margem posterior da cabeça.

CE = *Comprimento do Escapo*: comprimento máximo do escapo, excluindo o côndilo basal.

LMPr = *Largura Máxima do Pronoto*: em vista dorsal, largura máxima do pronoto, medido de lado a lado.

LMPe = *Largura Máxima do Pecíolo*: em vista dorsal, a largura máxima do pecíolo, medido de lado a lado.

CMa = *Comprimento da Mandíbula*: em vista lateral, base da gena ao dente mais distante.

COI = *Comprimento Máximo dos Olhos*: em vista lateral, diâmetro máximo do olho da região anterior para posterior (*gine*).

CW = *Comprimento de Weber*: em vista lateral, comprimento diagonal do mesosoma a partir da margem anterior do pronoto, excluindo o pescoço, até margem póstero-ventral do propódeo.

CPe = *Comprimento do Pecíolo*: em vista lateral, comprimento máximo longitudinal entre a extremidade anterior e posterior do pecíolo, excluindo os cõndilos anterior e posterior.

APe = *Altura do Pecíolo*: em vista lateral, a altura máxima do pecíolo, da borda inferior do esternito peciolar ao ápice do tergito peciolar, tomado em medida vertical perpendicular ao eixo longitudinal do pecíolo.

CFPo = *Comprimento do Fêmur Posterior*: comprimento máximo do fêmur, exceto o trocanter.

III.2. 6. Iconografia

As ilustrações foram obtidas segundo a metodologia proposta por Oliveira (2013). Inicialmente é retirado o canhão do microscópio e o espécime é orientado numa base alocada na platina do microscópio óptico. Uma câmera Sony Full HD 1080, AVCD 10.2 mega pixels é acoplada na base onde se encaixava o canhão do microscópio. Após as parametragens e otimizações de contraste, foco e iluminação da câmera, um vídeo é gravado (no formato MTS). Esse vídeo varre o objeto do ponto de nitidez mais alto (onde se tem o foco da estrutura, mais próximo da objetiva do microscópio) até o ponto focal mais distante, utilizando o botão micrométrico. Depois o vídeo é tratado no software livre ImagGrab 5.0 (<http://paul.glagla.free.fr/imagegrab.htm>), o qual extrai uma sequência de 48 imagens que traz cada uma um ponto de foco com nitidez diferente. Por fim, essas fotos são fusionadas com o auxílio do software livre Combine ZM (<http://www.hadleyweb.pwp.blueyonder.co.uk/index.htm>), o qual

gera uma única imagem nítida e com profundidade de foco ideal. Os ajustes finais são feitos no Adobe Photoshop 7.0.

III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pseudoponera stigma (Fabricius, 1804)

(Fig. 1-5)

História taxonômica

Formica stigma Fabricius, 1804: 400, gine, Guiana, Essequibo; Roger, 1860: 285-286, gine, (*Ponera quadridentata*); Roger, 1862: 288-289;

Ponera stigma: Mayr, 1863: 450; Emery, 1894b: 49; Forel, 1899: 15;

Pachycondyla (*Pseudoponera*) *stigma*: Emery, 1900b: 314; Emery, 1901a: 46;

Pseudoponera stigma: Forel, 1901c: 398, fig. c (perna);

Euponera (*Pseudoponera*) *stigma*, Forel, 1908: 37; Santschi, 1913: 35;

Euponera (*Trachymesopus*) *stigma*: Emery, 1911: 85; Forel, 1912: 39; Wheeler, 1913: 481; Wheeler & Mann, 1914: 13; Mann, 1916: 415; Smith, 1934: 536-564; Wheeler & Wheeler, 1952: 627-628, larva.

Trachymesopus stigma: Wilson, 1958: 355;

Mesoponera stigma: Wheeler & Wheeler, 1976: 55-58;

Pachycondyla stigma: Bolton, 1995: 310;

Pseudoponera stigma: Schmidt & Shattuck, 2014.

= *Ponera quadridentata* Smith, 1859: 143, operária, Indonésia, Ilha Aru; Roger, 1860: 285, operária; Emery, 1900: 314 (sinonimizado por Wilson, 1958g: 355);

= *Ponera myopa* Roger, 1860: 285, operária, (sinonimizado por Emery, 1887e: 434);

= *Ponera americana* Mayr, 1862: 722, gine, Colômbia; Forel, 1899: 16 (sinonimizado por Emery, 1887: 434);

= *Euponera (Trachymesopus) nixonii* Donisthorpe, 1943: 441, gine, New Guinea; Donisthorpe, 1948: 299, gine, (sinonimizado por Wilson, 1958d: 355);

= *Euponera (Trachymesopus) brunneus* Donisthorpe, 1948: 300, gine, macho, Nova Guiné (sinonimizado por Wilson, 1958d: 355);

= *Euponera (Trachymesopus) sexdentatus* Donisthorpe, 1949: 746, gine, Nova Guiné (sinonimizado por Wilson, 1958d: 355);

= *Ponera stigma* var. *attrita* Forel, 1893: 362-363, gine, macho, operária, Antilhas: Saint Vincent; Forel, 1899: 16; *Pachycondyla (Pseudoponera) stigma* var. *attrita*: Emery, 1901a: 46; *Euponera (Pseudoponera) stigma* var. *attrita*: Forel, 1908: 37; *Euponera (Trachymesopus) attrita*: Emery, 1911: 85; *Trachymesopus attrita*: Kempf, 1972: 251 *Pachycondyla stigma* var. *attrita*: Bolton, 1995: 303; Mackay & Mackay, 2010: 519;

= *Euponera (Trachymesopus) stigma* var. *rufescens*: Wheeler & Mann, 1914: 13, gine, macho, Haiti, Lago Assuei próximo a Manneville [lectótipo operária, dois paralectótipos operária, um paralectótipo gine, MCZC, três síntipo operária, AMNH)]; *Trachymesopus stigma* var. *rufescens*: Kempf, 1972: 251; *Pachycondyla stigma* var. *rufescens*: Bolton, 1995: 309; Mackay & Mackay, 2010: 519.

Etimologia: Segundo Mackay & Mackay (2010), o nome dado a esta espécie é baseado na palavra grega *stigma*, devido à mancha negra na célula *stigma* no par de asas mesotorácicas da gine alada.

Diagnose: Mandíbulas com rugas longitudinais finas e densas, borda basal subretilínea, com primeiro dente formando ângulo reto e o 2º e 4º dentes mais alongados; borda apical com dentes mais alongados. Clípeo em vista dorsal com rugas na região mediana, com processo triangular robusto e ápice arredondado em sua borda anterior. Lobos frontais com borda lateral fortemente convexa. Mesosoma em vista lateral com sutura promesonotal e sutura metanotal fortemente marcados. Asas mesotorácicas com célula *stigma* em forma de trapézio com seus 3/4 anteriores alongado e com seus 1/4 posteriores curto e de cor marrom escuro. Processo subpeciolar com 3/4 anterior fortemente convexo e 1/4 posterior subretilíneo e levemente convexo. Coloração com predominância marrom avermelhado e aspecto fosco.

Descrição

Operária. LCa: 0,85 – 1,24 (\pm 1,12); CCa: 0,93 – 1,29 (\pm 1,19); CE: 0,64 - 1 (\pm 0,88); CW: 1,2 – 2,18 (\pm 1,6); LMP_r: 0,58 – 1,02 (\pm 0,78); LMP_e: 0,47 - 0,78 (\pm 0,6); AP_e: 0,48 – 0,77 (\pm 0,63); CP_e: 0,27 - 0,47 (\pm 0,4); CMa: 0,46 - 0,77 (\pm 0,65); CFP_o: 0,8 - 1,2 (\pm 1,02).

Cabeça. Cápsula cefálica. – Cabeça em vista dorsal com formato subquadrada; bordas laterais levemente convexas; sem formação de proeminência ocular; olhos situados na parte anterior das faces laterais da cápsula cefálica, sendo uma linha imaginária desenhada entre o seu centro e passando logo após os pontos de maior distância entre as bordas dos lobos frontais. Margem vertexal fortemente convexa; borda vertexal subretilínea, levemente côncava na região mediana. Clípeo com borda anterior levemente côncava nas partes laterais e truncado retilíneo na parte mediana com um processo robusto; labro não visível; ventralmente, este perfil é completado por uma pequena convexidade formada pelo perfil da região mediana da borda basal do labro, quando observado em perspectiva vertical; borda posterior produz um longo triângulo estreito e agudo, que termina no ponto de encontro dos lobos frontais situado no terço anterior do comprimento dos mesmos. Lobos frontais bem desenvolvidos, com borda lateral fortemente convexa, dobrando levemente em sentido ventral; carenas frontais relativamente curtas e subretilíneas oblíquas, terminando na metade posterior da cápsula cefálica.

Cápsula cefálica em vista anterior com metade anterior da superfície do clípeo ventralmente dobrada e perpendicular em relação à metade posterior, sendo as duas partes do esclerito distintamente separadas por uma forte marginação; esta é suavemente truncada transversalmente na sua região central, com uma carena longitudinal.

Cápsula cefálica em vista posterior com carena occipital circular levemente marcada nas regiões laterais.

Cápsula cefálica em vista lateral com perfil da face dorsal subretilíneo, levemente convexo; perfil da face ventral retilíneo ântero-posteriormente nos seus 2/3 anteriores e um declive no seu 1/3 posterior; olho pequeno (3-5 omatídeos no maior diâmetro), subcircular e posicionado ântero-lateralmente a

uma distância equivalente ao seu maior diâmetro da borda anterior da gena. Clípeo com perfil anteriormente iniciado por uma concavidade curta que produz ventralmente um pequeno processo triangular, robusto e com ápice arredondado no nível da borda anterior, e posteriormente seguida por uma longa convexidade acentuada no seu terço anterior, sendo esse perfil dobrado por uma perspectiva convexidade muito curto, formando pela carena longitudinal mediana.

Apêndices cefálicos. — Mandíbulas triangulares, maciças e similarmente denticuladas; borda basal subretilínea formando com o primeiro dente mandibular uma angulação reta; borda apical grande, retilínea e com seis dentes triangulares, curtos e com ápice mais ou menos arredondados, sendo um dente apical robusto, seguido pelos 2º e 4º dentes mais alongados, levemente decrescentes até o dente basal que é geralmente pouco desenvolvido; borda externa (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-dorso-lateral) subretilínea no seu 2/3 basal e convexa no seu 1/3 distal; base da mandíbula com sulco diminuto e pouco distinto no seu dorso, logo a frente do *trulleum*; ausência de fôveas laterais; altura da base da mandíbula equivalente a cerca de 4-5 vezes o diâmetro máximo do olho. Palpos maxilares e labiais com três segmentos.

Antenas formadas de 12 segmentos. Escapos relativamente curtos (CE: ± 0,88 mm), com ápice que ultrapassa levemente a borda vertexal por uma distância inferior à sua maior largura, quando dirigidos posteriormente (cabeça em vista dorsal); base do segmento fina, gradualmente dilatada a partir do seu 1/4 basal e atinge o máximo diâmetro na sua metade distal, o qual equivale a quase 2,5 vezes a largura basal. Pedicelo distintamente mais comprido do que o próximo funículo; flagelo com funículos aumentando gradualmente em tamanho, sem diferenciar uma clava terminal, sendo os artículos 2-5 um pouco mais compridos do que largos, 6-7 aproximadamente tão compridos como largos, 8-10 mais largos do que compridos, o funículo apical tão longo quanto os dois anteriores juntos.

Mesosoma. — Mesosoma em vista dorsal com dorso do propódeo lateralmente comprimido, principalmente na parte anterior. Face lateral do mesosoma com uma depressão subvertical no nível da parte anterior da

metapleura e da face lateral do propódeo, servindo para acolher os metafêmures na face lateral do tagma.

Mesosoma em vista lateral com comprimento 1,5 vezes maior do que o da cápsula cefálica; perfil dorsal do mesosoma subretilíneo e forma uma leve convexidade contínua, a sutura promesonotal e o sutura metanotal fortemente marcados.

Protórax. – Mesosoma em vista dorsal com pronoto de comprimento equivalente a cerca de duas vezes o do mesonoto; ausência de carena entre a face dorsal e lateral do noto.

Pronoto em vista lateral com ângulo pósterio-ventral reto.

Mesotórax. – Mesosoma em vista lateral com borda anterior da mesopleura formando uma crista bem diferenciada em toda sua extensão; anepisterno e katepisterno não separados por um sulco.

Metatórax. – Mesosoma em vista dorsal com metanoto vestigial, reduzido a um simples elemento transverso situado entre os espiráculos e forma um estreito sulco curvado e afinado na sua região mediana.

Mesosoma em vista lateral com parte anterior da metapleura levemente deprimida ântero-dorsalmente. Espiráculo pequeno, com orifício posteriormente dirigido, reduzido a uma simples fenda no centro de anel elíptico marcado e saliente. Glândula metapleural com orifício muito pequeno, abrindo no ângulo pósterio-ventro-lateral do mesosoma, não coberto dorsalmente por uma dobra cuticular marcada em formato de U.

Propódeo. – Propódeo em vista lateral com perfil dorsal subretilíneo, levemente convexo, seu comprimento com cerca de 1,2 vezes o da face posterior que apresenta um perfil linear, levemente inclinado ântero-dorsalmente e encontra a face dorsal abruptamente um ângulo marcado; face posterior separada das faces laterais por uma forte marginação, sem definir uma carena com ângulo; parte mais anterior da face lateral levemente deprimida ântero-dorsalmente; espiráculo muito pequeno, com orifício pósterio-lateralmente dirigido, de forma elíptica com cerca de duas vezes mais longo do que largo, o eixo maior ântero-dorsal/ pósterio-ventral, e cercado por um anel cuticular oval.

Propódeo em vista posterior com margens pósterio-laterais retilíneas e paralelas, somente convergentes na parte mais dorsal da face posterior.

Mesosoma em vista ventral com metasterno exibindo um par de longos processos estreitos e agudos entre meso e metacoxa. Cavidades metacoxais (acetábulo metatorácico) abertas.

Pernas. – Pernas relativamente grandes. Metatíbia com ápice ventral com uma grande espora pectinada e uma pequena simples. Garras tarsais simples. Arolias ausentes.

Metasoma. Segmento abdominal II (Pecíolo). – Pecíolo em vista dorsal com nodo de formato conforme, a face anterior de perfil convexo na sua parte dorsal e achatada na parte ventral, a face posterior achatada e as bordas laterais retilíneas, anteriormente convergentes.

Pecíolo em vista anterior com perfil dorsal do nodo formando uma forte convexidade contínua até as faces laterais levemente convexas.

Pecíolo em vista ântero-dorsal com perfil da borda anterior do nodo nitidamente côncava.

Pecíolo em vista lateral com nodo de formato subtriangular, o perfil da face anterior retilíneo e oblíquo, encontrando o perfil da face posterior subretilíneo e levemente convexo, com um ângulo agudo, arredondado, mas sem diferenciar uma face dorsal. Perfil da face ventral do esternito diferenciando o processo subpeciolar em um forte lobo, no seu 3/4 anterior arredondado e fortemente convexo, e no seu 1/4 posterior subretilíneo e levemente convexo; ausência de fenestra.

Gáster. – Gáster em vista dorsal com perfil da face anterior do tergito abdominal III subretilíneo e levemente convexa, encontrando as faces laterais levemente convexas e anteriormente convergentes. Segmento abdominal IV com cerca de 1,3 vezes mais largo do que o terceiro segmento, com perfil das faces laterais levemente convexas e subparalelas entre si.

Gáster em vista lateral relativamente curto, os dois primeiros tergitos de comprimento semelhante. Segmento abdominal III com tergito diferenciando uma face anterior de perfil retilíneo, e vertical que encontra uma face dorsal de perfil levemente convexo, com um ângulo quase reto, mas arredondado; espiráculo minúsculo e subcircular; esternito abdominal III com perfil convexo e de comprimento equivalente a cerca da metade do tergito; perfil do processo subpospeciolar forma um processo triangular agudo relativamente grande, projetado ântero-ventralmente logo abaixo do *helcium*; segmento abdominal III

com face anterior convexidade bem marcado, definindo um ângulo de 90° em relação à borda dorsal. Segmento abdominal IV com constrição marcada entre o pré e pós-segumento, sendo o tergito de perfil levemente convexo e o esternito com perfil muito convexo, seu comprimento equivalente a cerca de 1/3 do tergito; órgão estridulatório ausente. Pigídio e Hipopígio de perfil retilíneo, sem dentes. Extremidade saliente do ferrão curvada e pontuda.

Esculturação. Pontuações e Fóveas. — Finas pontuações pilíferas densas (1d/i) pouco cavadas que cobrem inteiramente a superfície da cápsula cefálica (exceto a margem periférica do acetábulo das inserções antenais), dos escapos, das faces laterais e das margens periféricas do dorso do pronoto, das margens anterior e laterais do mesonoto, do anepisterno e do dorso do propódeo, assim como na superfície das margens laterais do dorso do clipeo na sua metade posterior, e do fêmur e tíbia das perna onde são ainda mais superficiais; outras mais esparsas (2d/i) na superfície da margem central do dorso do pronoto e do mesonoto; outras ainda mais esparsas (>4d/i) na superfície das mandíbulas, do pecíolo e do gáster. Demais territórios sem a presença desse tipo de macro escultura.

Carenas e Carínulas. — Uma carena longitudinal marcada em posição medial na metade anterior do clipeo. Ausência de uma carena longitudinal marcada na região dorsal das gena. Diversas finas carenas e carínulas longitudinais superficiais na superfície do anepisterno, katepisterno, da metapleura e parte mais ventral das faces laterais do propódeo. Demais territórios sem a presença desse tipo de macro escultura.

Rugas e Rúgulas. — Mandíbulas recobertas por rugas longitudinais finas e densas, exceto no 1/4 da região distal e margem mastigatória (moderadamente brilhantes). Clipeo em vista dorsal com rugas na região mediana.

Assento tegumentar. — Assento tegumentar inteiramente liso e brilhante.

Coloração. Cores e brilho. — Corpo com padrão cromático múltiplo. Tegumento com tonalidade geral de cor relativamente escura, com uma dominância de marrom avermelhado. Aspecto global fosco. Cápsula cefálica com padrão bicromático, basicamente marrom escuro, e com as áreas genais pré-ocular dorsal, lateral e subocular, os lobos frontais e o clipeo apresentando

uma tonalidade de cor mais clara, marrom alaranjado. Hipóstoma de cor preta na região mediana e vermelha alaranjada lateralmente. Mandíbulas com padrão bicromático, sendo basicamente de cor marrom alaranjado, discretamente escurecido em marrom avermelhado na margem dos dentes. Olho de cor vermelha escuro. Antenas com padrão monocromático, sendo todos os segmentos de cor marrom avermelhada claro.

Mesosoma com padrão geral tricromático, de cor marrom escuro, alaranjado e claro. Pronoto, mesopleura e metapleura com margens externas das faces laterais marcadas por uma pigmentação marrom alaranjado. Pernas com padrão bicromático, sendo os fêmures de cor variando de marrom avermelhado a marrom alaranjado e o resto do apêndice de cor alaranjado. Pecíolo de cor marrom escuro e processo esternal alaranjado.

Gáster com padrão tricromático, com base marrom escura, e segmento abdominal III marrom claro na sutura tergo-esternal, e pigídio e o hipopígio alaranjada.

Pilosidade. — Cerdas finas, amarelas, subdecumbentes, muito densas e de ampla distribuição, formando uma pubescência na maior parte do corpo (exceto na região mediana do clipeo); sendo nas antenas, fêmures e região lateral do pronoto apresentam pubescências menores.

Cerdas finas, amarelas, decumbentes, de baixa densidade, com distribuição em baixa densidade, uniforme na face externa nas mandíbulas e inclinada para margem apical e mastigatória.

Cerdas finas, amarelo-dourada, eretas a decumbentes e de baixa densidade, distribuídas na região mediana dorsal e ventral da cabeça, margem vertexal, margem mastigatória e região látero-ventral das mandíbulas, escapos, região mediana e margem anterior do clipeo, região dorso-lateral do mesosoma (exceto região lateral do pronoto), região póstero-lateral do propódeo, região póstero-ventral das pernas, dorso do pecíolo, processo subpeciolar, processo subpospeciolar e gáster.

Gine. LCa: 1,03 – 1,44 (\pm 1,3); CCa: 1,07 – 1,44 (\pm 1,31); CO: 0,23 – 0,36 (\pm 0,32); CE: 0,77 – 1,1 (\pm 0,96); CW: 1,67 – 2,23 (\pm 2,03); LMPPr: 0,83 – 1,12 (\pm 1); LMPe: 0,71 – 0,78 (\pm 0,75); APe: 0,57 – 0,85 (\pm 0,75); CPe: 0,33 – 0,49 (\pm 0,44); CMa: 0,59 – 0,87 (\pm 0,72); CFPo: 1,02 – 1,28 (\pm 1,2).

Cabeça. Cápsula cefálica. — Morfologia similar à operária, mas com olhos em vista dorsal com bordas levemente convexo, sendo nos seus 2/3 anteriores levemente convergentes anteriormente, e com 1/3 posteriores levemente convergentes posteriormente. Olhos moderadamente globulosos, mas formando uma proeminência saliente.

Cápsula cefálica em vista lateral com olhos bem desenvolvidos (com 25 omatídeos no maior diâmetro), subelíptico e posicionado a uma distância da borda anterior da gena equivalente a 1/3 do seu maior diâmetro.

Apêndices cefálicos. — Mandíbulas com formato subtriangular muito obtuso no encontro da borda basal e apical; borda basal subconvexa; borda apical com seis dentes, sendo o dente apical triangular relativamente mais alongado e curvado do que a operária, seguido por quatro dentes triangulares menores, de tamanho equivalente em si, e um dente basal muito diminuto e arredondado. Borda externa (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-dorso-lateral) subretilínea, mas convexa no nível do dente apical. Altura da base da mandíbula (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-lateral) equivalente ao diâmetro máximo do olho.

Antenas com ápice ultrapassando levemente a borda vertexal por uma distância equivalente ao seu mínimo diâmetro, quando dirigidos posteriormente (cabeça em vista dorsal); base do escapo fina, gradualmente dilatada a partir do seu 1/3 basal e atingindo o máximo diâmetro nos seus 2/3 distais, o qual equivale a quase duas vezes a largura basal. Segmento apical do funículo levemente mais longo que os dois anteriores juntos.

Mesosoma. - Mesosoma em vista dorsal com formato subretangular, o perfil das faces laterais levemente convexos e as margens ântero-lateral do dorso do pronoto muito arredondadas.

Mesosoma em vista lateral com comprimento 1,5 vezes maior do que o da cápsula cefálica; perfil dorsal formando uma leve convexidade contínua somente interrompida pela margem anterior levemente saliente do mesonoto, e as suturas promesonotal e metanoto-propodeal pouco marcadas.

Protórax. — Mesosoma em vista dorsal com comprimento do dorso do pronoto equivalente a cerca de 2/3 o do mesoscuto; ausência de carena entre face dorsal e faces laterais do noto.

Pronoto em vista lateral com ângulo póstero-ventral levemente obtuso.

Mesotórax. — Mesosoma em vista dorsal com mesoscuto de comprimento equivalente a três vezes o do escutelo; borda anterior formando uma larga convexidade; borda posterior retilínea e contínua; *notaulli* ausentes. Sulco *scutal* formando uma larga concavidade anteriormente aberta. Sulcos parapsidiais presentes, marcados e subretilíneo, sendo levemente curvados e diverge anteriormente, sua extremidade anterior atingindo a metade do esclerito.

Scutum e Escutelo – São medialmente separados por uma curta faixa cuticular contínua interconectando as *axillae* que formam duas áreas triangulares bem desenvolvidas ântero-lateralmente ao escutelo. Sulco do escutelo formando uma larga convexidade posteriormente dirigida. Tégula normalmente desenvolvidas, formando dois pequenos triângulos.

Metatórax. — Mesosoma em vista dorsal com metanoto normalmente desenvolvido, limitado a uma curta e larga placa transversa com bordas anteriores e posteriores paralelas e formando uma concavidade anteriormente aberta. Processos do metasterno e cavidades metacoxais não examinados no mesosoma em vista ventral.

Mesosoma em vista posterior com margens póstero-laterais diferenciadas nos seus 2/3 dorsais, sendo retilíneas e dorsalmente divergentes no seu terço mediano e convergente no seu 1/3 dorsal.

Mesosoma em vista lateral com borda anterior da mesopleura formando uma crista retilínea, bem diferenciada; anepisterno e katepisterno separados por um sulco bem marcado que atravessa longitudinalmente a totalidade do esclerito. Espiráculo circular, diminuto, mas bem visível no fundo de uma pequena depressão, externamente não marcada por um anel cuticular. *Axillae* diferenciando uma pequena face lateral separada da face dorsal por uma forte marginação arredondada e situada logo na base da articulação alar.

Mesosoma em vista lateral com perfil dorsal levemente convexo, seu comprimento cerca de 2/3 o da face posterior. Face posterior separada das faces laterais por uma forte marginação, sem definir uma carena angulada, com perfil subretilíneo, levemente convexo e inclinada ântero-dorsalmente, encontrando o perfil da face dorsal segundo um ângulo relativamente marcado e obtuso. Faces laterais não deprimidas ântero-dorsalmente, mas convergentes

posteriormente no nível da *bulla* da glândula metapleural; espiráculo pequeno, com orifício posteriormente dirigido.

Mesosoma em vista lateral com parte anterior da metapleura não deprimida ântero-dorsalmente. Espiráculos pequenos, com orifício pósterolateralmente dirigido, reduzido a uma simples fenda no centro de anel cuticular elíptico pouco marcado e não saliente.

Propódeo. — Mesosoma em vista dorsal com o dorso do propódeo relativamente curto, as faces laterais com perfil subretilíneo e levemente convergente posteriormente.

Pernas. — Pernas semelhantes às das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Asas. — Asas bem desenvolvidas (gine macroptera). Asas mesotorácicas (n=1 tipo e um parátipo) com nervação: células C, R, 1Cu, 1M, 1Rs, 1R1, 2Cu e 2R1 fechadas, as outras abertas ou ausentes; base of Rs, Cu-a e 2r-m interrompidas por uma *bulla* discreta; lobo claval despigmentado e transparente. Célula *stigma* em forma de trapézio com seus 3/4 anteriores alongado e seus 1/4 posteriores curto e de cor marrom escuro.

Metasoma. Segmento abdominal II (pecíolo). — Pecíolo em vista dorsal semelhante às das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Pecíolo em vista lateral com nodo de formato subtriangular, perfil da face anterior retilíneo e oblíquo, encontrando o perfil da face posterior retilíneo.

Gáster. — Gáster em vista dorsal com segmento abdominal IV semelhante aos das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Gáster em vista lateral relativamente maior do que a operária. Segmento abdominal III com tergito diferenciando uma face anterior de perfil subretilíneo, levemente convexo; órgão estridulatório ausente; esternito abdominal III com perfil de comprimento equivalente a cerca de 1/3 do tergito. Segmento abdominal IV com esternito de comprimento equivalente à metade do tergito. Pigídio e Hipopígio de perfil retilíneo, sem dentes. Extremidade saliente do ferrão curvada e pontuda.

Esculturação. - Padrão de escultura similar ao das operárias, mas sendo diferenciado em alguns pontos.

Pontuações e Fóveas. — Finas pontuações pilíferas com padrão morfológico e distribuição similar à operária, inclusive na totalidade do dorso do mesosoma onde a sua densidade é levemente acentuada (<1d/i).

Carenas e Carínulas. — ausência de carena longitudinal em posição medial na metade anterior do clipeo. Ausência de carena na região dorsal das gena. Diversas finas carinas e carínulas longitudinais superficiais no anepisterno, no katepisterno, na metapleura e na parte mais ventral das faces laterais do propódeo.

Rugas e Rúgulas. — Mandíbulas recobertas por rugas longitudinais finas e densas, exceto no 1/4 da região distal e margem mastigatória (moderadamente brilhantes). Algumas rúgulas longitudinais eventualmente anastomosadas no anepisterno.

Assento tegumentar. — Assento tegumentar inteiramente liso e fosco, semelhante às operárias.

Coloração. *Cores e brilho.* — Semelhante às operárias.

Pilosidade. — Semelhante às operárias.

Material tipo examinado

Holótipo: Guiana, Essequibo, 1804, col. Sehested & T. Lund, ZMUC 00241587, (Fotomicrografias de alta resolução por Lars Vilhemsen) (duas gines) (MZUC).

Outro material examinado

Brasil: Amazônia, Manaus, elev. 63 m., (02° 54' 15" S, 60° 16' 14" O), IX.1962, col. Lenko, L. (três operárias) (CPDC); Amazônia, elev. 63 m., (02° 54' 15" S, 60° 16' 14" O), 1992/ 1994, col. Queiroz, M. (duas operárias) (CPDC); Amazônia, Benjamin Constant, elev. 119 m., (4° 31' 13" S e 69° 57' 18" O), III.2004, col., Zanetti, R & Dias, N, (duas operárias) (LBSA); Bahia, Arataca, elev., 275 m., (15° 15' S e 39° 24' O), 5.VII. 2007, col., Mariano, (uma operária) (CPDC); Bahia, Ilhéus (CEPEC), elev. 29 m., (14° 47' 36" S, 39° 02' 46" O), 14.VIII.2013, col. Correia, JPSO (uma operária e uma gine) (CPDC); Bahia, Ilhéus (CEPEC), elev. 29 m., (14° 47' 36" S, 39° 02' 46"), 03.VI.2014, col.

Correia, JPSO (uma operária) (CPDC); Bahia, Ilhéus (CEPEC), elev. 29 m., (14° 47' 36" S, 39° 02' 46"), 13.VIII.2013, col. Correia, JPSO (duas operárias) (CPDC); Bahia, Mata de São João (Reserva Sapiranga), elev. 37 m., (12° 33' 29,3" S, 33° 02' 35,2" O), 21.VII.2001/ 28.VII.2001, col. Brandão, C.R. & Silva (três operárias) (MZSP); Bahia, Valença (Fazenda Expedito), elev. 76 m., (13° 22' 15" S, 39° 04' 22" O), 13.VIII.2013, col. Correia, JPSO (duas operárias) (CPDC); Goiás, Ouro Verde (Fazenda Boa Vista), elev. 674 m., (16° 17' 54" S, 49° 12' 42" O), 20.I.2005/ 24.I.2005, col. Silva, R. (uma operária) (MZSP); Maranhão, João Lisboa, elev. 1060 m., (5° 19' 46,3"S, 47° 19' 13" O), 7.I.2005/ 13.I.2005, col. Silva, R. & Silvestre (uma operária) (MZSP); Mato Grosso do Sul, Corumbá, elev. 151 m., (19° 00' 41" S, 57° 39' 05" O), 24.XI.1960, col. Lenko, K. (uma operária) (MZSP); Pará, Belém, elev. 34 m., 12. VIII. 1962/ 19. VIII.1962, col. Lenko, K. (três operárias e uma gine) (CPDC); Pará, Belém, 12.VIII.1962/ 19.VIII.1962, col. Lenko, K. (uma operária e três gines) (MZSP); Pernambuco, Tapera, elev. 380 m., (9° 25' 46" S, 40° 43' 54" O) col. Pickol, B. (duas operárias e uma gine alada) (MZSP); Rondônia, III, 1998, col. Santos, J.R. M. (duas operárias) (CPDC); Rondônia, Jaciparana (Módulo de três Praias), elev. 102 m., (9° 15' 55" S, 64° 24' 02" O), 9.IX.2011, col. Fernandes, IO (duas operárias) (CPDC); São Paulo, Caraguatatuba (Reserva Flor), elev. 40 m., 22.V.1962/ 1.VI.1962, col. Exp. Depto. Zoo. (três operárias) (MZSP); Tocantins, Aguiarnópolis, (6° 36' 49" S, 47° 28' 53" O), 14.I.2005/ 19.I.2005, col. Silvestre, R. & Silva, R. (duas operárias) (MZSP). **Costa Rica:** Puntarenas, elev. 10 m., (9° 23' N e 84° 9' W), 27.VIII.1985, col. Ward, PS, (uma operária) (AntWeb Casent 0249159). **Estados Unidos:** Florida, Palm Beach Co. (Boynton Beach), elev. 13 m., (27° 39' 53" N e 81° 30' 56" O), 16.I.1987, (uma operária) (AntWeb Casent 0104187). **Fiji:** Viti Levu, Savura Crk (8 kmColo-i-Suva Vlg.), elev. 200 m., (18° 03,5' S e 178° 26,5' O), 15.II.2002, col., Gravelle, G, (uma operária) (AntWeb Casent 0171132). **Guiana Francesa:** Barragem de Petit Saut, elev. 34 m., (05° 03' 45" N, 53° 02' 46" O), X.2002, col. Orivel & Dejean (duas operárias) (CPDC); Barragem de Petit Saut, elev. 113, (03° 39' 17" N, 54° 02' 28" O), X.2000, col. Durou, Delabie, Dejean & Giberman (três operárias) (CPDC); Barragem de Petit Saut, elev. 34 m., (05° 03' 45" N, 54° 02' 28" O), X.2002, col. Orivel & Dejean (três operárias) (CPDC); Barragem de Petit Saut, elev. 34 m., (05° 03' 45" N, 54° 02' 28" O), V.1997, col. Orivel & Dejean

(uma operária) (CPDC); Barragem de Petit Saut, elev. 34 m., (05° 03' 45" N, 54° 02' 28" O), 08.VII.1998, col. Dejean (três operárias) (CPDC); Barragem de Petit Saut, elev. 34 m., (5° 03' 45" S, 53° 02' 46" O), V.1997, col. Orivel (três operárias) (CPDC); Maripasoula, elev. 113 m., (3° 39' 17" S, 54° 02' 28" O), X.2000, col. Durou, Delabie, Dejean & Giberman (três operárias) (CPDC); Saint-Elie, elev. 88 m., (4° 49' 21" S, 53° 16' 35" O), IV.2002, col. Orivel (uma operária) (CPDC). **Estados Federados da Micronésia:** Pohnpei, Caverna Nahnalaud, elev. 306 m., (6° 51' 14" N e 158° 15' 44" L), 24.II.2000, col. Clouse, R. (uma operária) (Ant Web Casent 0178392). **Panamá:** Barro Colorado, elev. 148 m., (9° 08' 40" S, 79° 50' 54" O), VII.1996, col. Peeters (três operárias) (CPDC). **Paraguai:** San Pedro, Tapiracuai Loma, elev. 116 m., (24° 53' S e 56° 10' O), 19.X.1995, col., Wild, A. (uma operária e uma gine) (AntWeb Casent 0178180). **Peru:** Puno, Maldonado (Madre de Dios/ Camping Schavacayoc (t), elev. 3838 m., (12° 49' 36" S, 69° 22' 14" O), 26.VII.2012, col. Fernandes, IO (uma operária) (CPDC). **Venezuela:** Anduza, San Esterban, 25. XII. 1939 (uma operária) (MZSP)

Comentários gerais: Durante sua história taxonômica, *P. stigma* tem sofrido inúmeras combinações, que ocasionaram grandes confusões (ROGER, 1862; MAYR, 1863; EMERY, 1900; 1901; 1911; FOREL, 1901; WILSON, 1958; WHEELER & WHEELER, 1952; 1976; BOLTON, 1995; MACKAY & MACKAY, 2010; SCHIMIDT & SHATTUCK, 2014). A sua descrição é antiga e pouca detalhada, a qual conduziu Wilson (1958) a sinonimizar várias espécies em *P. stigma*. A grande quantidade de sinônimos existentes também pode estar ligada à ampla distribuição geográfica (com. pess. FEITOSA).

Fabricius, 1804 descreveu *P. stigma* como:

“Formiga preta com subpubescências cinzas, antenas e as pernas são vermelhas. Ela vive na América do Sul, coletado por Dom. Smidt e Dom. Lund. Mandíbula com muitas estrias vermelhas projetando até o ápice. Cabeça preta e antenas vermelho. Tórax comprimido, preto e com subpubescências cinzas. Pecíolo com grande escala, levantado, arredondado. O abdômen é preto. Pernas são vermelhas. Asas brancas com célula *stigma* preta.”

O holótipo de *P. stigma* (♀) encontra-se no Museum of Zoology University of Copenhagen, ZMUC, Dinamarca (código de registro: ZMUC 00241587). As únicas informações na etiqueta são: “Essequibo. Smidt, Mus: T: Lund. *Formica stigma*”, bem como a assinatura de identificação de Fabricius. (Figura 2). O outro exemplar (código de registro: ZMUC 00241588) é também uma gine, denominada igualmente como tipo (Figura 3). Deste modo, temos a localidade exata do holótipo, sendo coletada próximo ao Rio Essequibo na Guiana.

Desde sua descrição, *P. stigma* foi citada em vários estudos taxonômicos, mas nenhum desses declaram a observação do material-tipo, com exceção de Roger (1862). Segundo Roger (1862), ao analisar os tipos percebeu a grande semelhança com *Pseudoponera quadridentata* (Smith, 1859) (atualmente sinônimo júnior de *P. stigma*), e definiu *P. quadridentata* como variação de *P. stigma*. Do mesmo modo, Wilson (1958) comparou indivíduos do Novo Mundo e Velho Mundo e não observou diferenças entre elas. Wheeler & Wheeler (1952; 1976), a partir de análise morfológica de larvas, encontraram diferenças entre indivíduos das regiões neotropicais e do Pacífico. Por outro lado, a revisão proposto por Mackay & Mackay (2010), além de ser um estudo extenso, apresenta alguns equívocos na diagnose, descrição e comparação de *P. stigma*. Adicionalmente, estudos como de Mayr (1863), Emery (1894), Forel (1899; 1908; 1912), Sanstchi (1913), Wheeler (1913), Wheeler & Mann (1914), Mann (1916) e SMITH (1934) não passam de catálogos de registros de distribuição.

Para análise de *P. stigma*, as fotomicrografias de alta resolução dos tipos foram enviadas do Museum de Zoology da University of Copenhagen (ZMUC), por Dr. Lars Vilhemsen, e examinadas com a descrição original proposta por Fabricius (1804). As fotos do holótipo não mostraram todos os caracteres úteis para uma detalhada descrição, pela falta de limpeza do espécime antes da fotografia, posicionamento das pernas, asas e a posição irregular do espécime em seu próprio eixo. Assim, a descrição da gine foi complementada através do exame morfológico de outros espécimes gines desta espécie. A vinculação da morfologia da operária com a gine foi

possibilitada através do estudo de indivíduos provindo de uma mesma colônia (contendo operárias e três gines).

Devido à falta de uma descrição detalhada dessa espécie, indivíduos de *P. stigma* são frequentemente nomeados por comparação de caracteres morfológicos e biológicos, acarretando em erros na identificação. Esta espécie é normalmente confundida como *P. gilberti*, como visto no estudo de Mariano et al. (2012) e em alguns exemplares armazenados no MZSP e CPDC. Por outro lado, essa espécie diferencia-se facilmente de *P. gilberti* pela forma das mandíbulas e do clipeo e célula *stigma* das asas das gines. Assim, uma análise morfológica detalhada de *P. stigma*, promovendo uma redescrição dessa espécie é necessária para determinação taxonômica correta.

Distribuição geográfica: Esta espécie tem a mais ampla distribuição dentro gênero, ocorrendo na região Neotropical e na Ásia, encontradas em florestas tropicais. Espécimes de *P. stigma* foram registrados desde sul dos Estados Unidos a Norte da Argentina, e no Velho Mundo, nas ilhas de Aru, Fiji, na Indonésia, e Estados Federados da Micronésia (WETTERER, 2012; SCHMIDT & SHATTUCK, 2014).

Neste estudo foram registrados exemplares na maior parte do Brasil, na floresta Amazônica (Amazônia, Pará e Rondônia), Pantanal (Mato Grosso e Goiás), Caatinga (Tapera-PE) e Mata Atlântica (Figura III. 6).

História Natural: Existem poucos estudos comportamentais e ecológicos sobre *P. stigma*. Indivíduos foram encontrados em manguezais e plantações de bananas (ANTWEB, 2014), geralmente registrados em troncos de árvores apodrecidas em florestas (WILD, 2002; LONGINO, 2005). Logo, indivíduos de *P. stigma* foram encontrados a uma altitude até 3400 metros (MACKAY & MACKAY, 2010), os dados aqui reunidos registram indivíduos coletados entre 4 – 3835 metros ao nível do mar e também em vegetação primária e secundária, como em áreas de “cabruca” (plantio de cacau com cobertura de floresta).

Nas coletas realizadas entre agosto e outubro no sul da Bahia foram observadas gines aladas dentro de troncos apodrecidos. Além de registros de coleções do MZSP e CPDC, que mostram gines coletadas entre julho a

dezembro. Também no período entre fevereiro e dezembro foram coletados gines por Mackay & Mackay (2010).

Colônias foram encontradas associadas às térmitas do gênero *Nasutitermes*, outras colônias nidificando entre o solo e raiz da planta *Phyllodendron linnei*. Armadilhas feitas com lâmpadas de vapor de mercúrio e luz negra são utilizadas para atrair gines e machos dessa espécie. O sapo *Dendrobates bistrionicus* foi único registro de predador para essa espécie (MACKAY & MACKAY, 2010).

Várias colônias foram criadas com sucesso em ninhos artificiais. Gines e operárias foram alimentadas com *Drosophila* sp. e Orthoptera, algumas colônias chegaram a permanecer vivas durante um ano e dois meses.

Segundo Oliveira et al., (1998), indivíduos dessa espécie apresentam colônias relativamente pequenas, com cerca 80 operárias, dimorfismo limitado entre operária e rainha, hábitos crípticos e predadores generalistas. Também foi observada a presença de várias gines, sendo que uma delas realizava a postura de ovos.

Pseudoponera stigma apresenta a maior distribuição entre as espécies do gênero *Pseudoponera*. Mesma assim, essa espécie não apresentou uma grande variação morfológica. A única variação drástica observada foi no tamanho e coloração das amostras nativas de biomas diferentes.

Wetterer (2012) sugere que *P. stigma* seja uma espécie invasiva e dispersa pela ação humana, mas esta hipótese é ainda questionada pela falta de dados.



Figura III. 1: A-D: Imagens da operária de *P. stigma* (Brasil: Pará: Belém). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – dorsal; D - lateral. Foto por Muriel Oliveira. (CPDC).

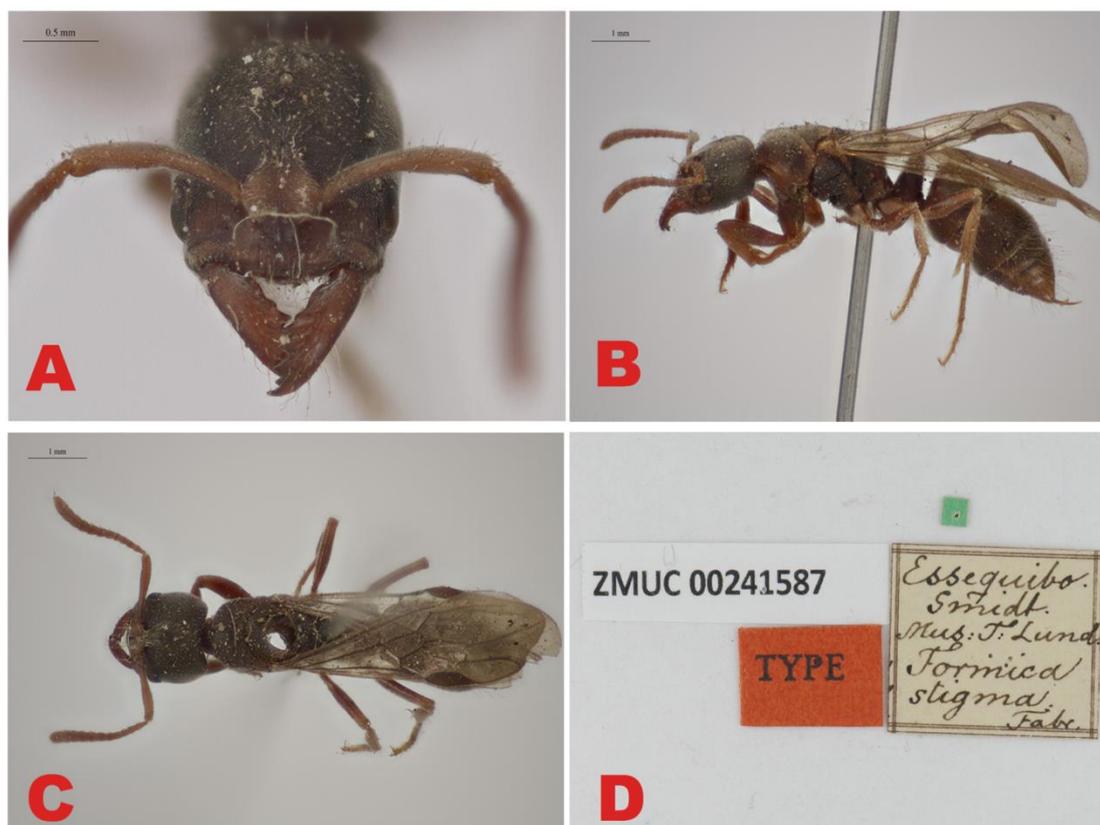


Figura III. 2: A-D: Imagens do holótipo (gine) de *P. stigma* (Guiana: Essequibo). A – cabeça em vista dorsal; B - lateral; C – dorsal; D – etiqueta. Foto por Lars Vilhemsen. (ZMUC).



Figura III. 3: A-D: Imagens da gine de *P. stigma* (Guiana: Essequibo). A – cabeça em vista dorsal; B - lateral; C – dorsal; D – etiqueta. Foto por Lars Vilhemsen. (ZMUC).

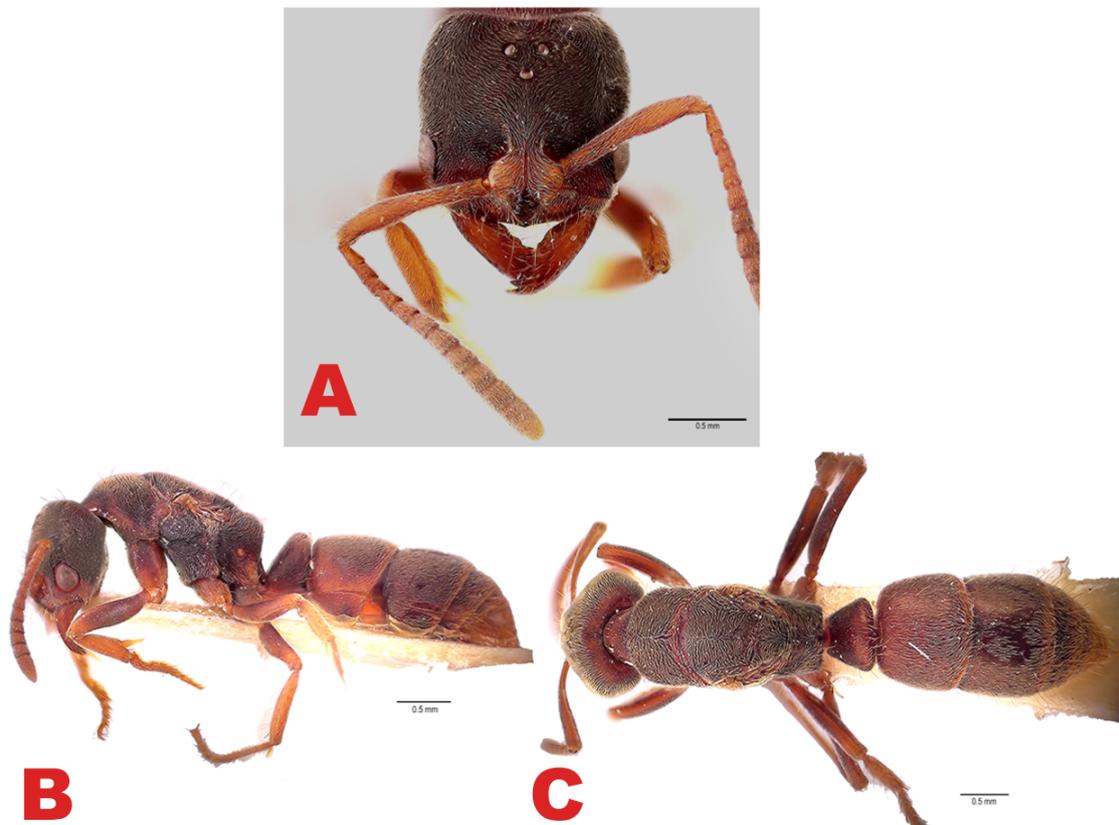


Figura III. 4: A-C: Imagens da gine de *P. stigma* (Brasil: Pará: Belém). A – cabeça em vista dorsal; B – lateral; C – dorsal. Foto por Muriel Oliveira. (CPDC).



Figura III. 5: Imagem da asa mesotorácica da gine de *P. stigma* (Brasil: Bahia: Ilhéus). (CPDC).



Figura III. 6: Distribuição dos espécimes analisados de *P. stigma*.

***Pseudoponera gilberti* (Kempf, 1960)**

(Fig. 7-11)

História taxonômica

Trachymesopus gilberti Kempf, 1960: 423, 425-427, Fig. 6, gine, operária, Brasil: São Paulo: Agudos [operária holótipo, MZUSP, operária vulgo espécime identificado por Kempf em USNM, gine parátipo, MCZC];

Mesoponera gilberti: Wheeler & Wheeler, 1971: 1206, Fig. 16a, b;

Mesoponera gilberti: Brandão, 1991: 356;

Pachycondyla gilberti: Bolton, 1995: 305; Mackay & Mackay, 2010;

Pseudoponera gilberti: Schmidt & Shattuck, 2014.

Etimologia: Kempf (1960) nomeou esta espécie em homenagem ao coletor e docente, do Seminário Franciscano em Agudos, Frei Gilbert.

Diagnose: Mandíbula com pontuações pilígeras esparsas, borda basal subretilínea no seu 1/3 anterior apresenta borda basal subretilínea no seu 1/3 proximal e convexa nos seus 2/3 distais, encontrando a borda apical por um ângulo obtuso; borda apical com dentes mais curtos. Clípeo em vista dorsal na região mediana com processo triangular agudo na borda anterior; em vista dorsal labro visível, convexo e truncado. Lobos frontais com borda lateral retilínea oblíqua no seu 2/3 anterior e fortemente convexa no seu 1/3 posterior. Mesosoma em vista lateral com sutura promesonotal e sutura metanotal levemente marcados. Asas mesotorácicas com célula *stigma* triangular equilátero de cor marrom claro. Processo subpeculiar no seu 2/3 anterior fortemente convexo e no seu 1/3 posterior subretilíneo e levemente convexo. Coloração com predominância escura e aspecto brilhante.

Descrição

Operária. LCa: 1,19 - 0,85 ($\pm 1,02$); CCa: 0,9 – 1,24 ($\pm 1,08$); CE: 0,65 – 0,91 ($\pm 0,78$); CW: 1,25 – 1,62 ($\pm 1,42$); LMP: 0,59 – 0,8 ($\pm 0,7$); LMPe: 0,42 – 0,62 ($\pm 0,54$); APe: 0,45 - 0,68 ($\pm 0,57$); CPe: 0,27 – 0,47 ($\pm 0,35$); CMa: 0,43 – 0,65 ($\pm 0,55$); CFPo: 0,85 – 1,1 ($\pm 0,91$).

Cabeça. Cápsula cefálica. — Cabeça em vista dorsal com formato subquadrada; bordas laterais levemente convexas, sem formação de proeminência ocular; olhos situados na parte anterior das faces laterais da cápsula cefálica, sendo a linha imaginária desenhada entre o seu centro e passando logo após os pontos de maior distância entre as bordas dos lobos frontais. Margem vertexal fortemente convexa; borda vertexal subretilínea, levemente côncava na região mediana. Clípeo com borda anterior levemente côncava nas partes laterais e truncado retilíneo na região mediana com processo triangular agudo; labro visível, convexo e truncado; ventralmente, este perfil é completado por uma pequena convexidade formada pelo perfil da região mediana da borda basal do labro, quando observado em perspectiva vertical; borda posterior produz um longo triângulo estreito e agudo, que termina no ponto de encontro dos lobos frontais situado no terço anterior do comprimento dos mesmos. Lobos frontais bem desenvolvidos, com uma borda

lateral retilínea oblíqua no seu 2/3 anterior e fortemente convexa no seu 1/3 posterior, dobrando levemente em sentido ventral; carenas frontais relativamente curtas e subretilíneas oblíquas, terminando na metade posterior da cápsula cefálica.

Cápsula cefálica em vista anterior com metade anterior da superfície do clipeo ventralmente dobrada e perpendicular em relação à metade posterior, sendo as duas partes do esclerito distintamente separadas por uma forte marginação; esta é suavemente truncada transversalmente na sua região central, a partir da qual se inicia uma carena longitudinal.

Cápsula cefálica em vista posterior com carena occipital circular levemente marcada nas regiões laterais.

Cápsula cefálica em vista lateral com perfil da face dorsal subretilíneo, levemente convexo; perfil da face ventral retilínea ântero-posteriormente nos seus 2/3 anteriores e um declive dorsal no seu 1/3 posterior; olho pequeno (3-4 ommatídeos no maior diâmetro), subcircular e posicionado ântero-lateralmente a uma distância equivalente ao seu maior diâmetro da borda anterior da gena. Clipeo com perfil anteriormente iniciado por uma concavidade curta que produz ventralmente um pequeno processo triangular e agudo no nível da borda anterior, e posteriormente seguida por uma longa convexidade acentuada no seu terço anterior, sendo esse perfil dobrado em perspectiva por uma convexidade muito curta formada pela carena longitudinal mediana.

Apêndices cefálicos. — Mandíbulas triangulares, maciças e similarmente denticuladas; borda basal subretilínea no seu 1/3 proximal e convexa nos seus 2/3 distais, encontrando a borda apical por um ângulo obtuso; borda apical grande, retilínea e com seis dentes triangulares e curtos, sendo o dente apical triangular marcado e agudo, seguido por quatro menores, levemente decrescente até o dente basal que é geralmente pouco desenvolvido com ápice mais ou menos arredondado; borda externa (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-dorso-lateral) subretilínea no seu 2/3 basal e convexa no seu 1/3 distal; base da mandíbula com sulco diminuto e pouco distinto no seu dorso, logo a frente do *trulleum*; ausência de fóveas laterais; altura da base da mandíbula equivalente a cerca de 4-5 vezes o diâmetro máximo do olho. Palpos maxilares e labiais com três segmentos.

Antenas formadas de 12 segmentos. Escapos relativamente curtos (CE: $\pm 0,78$ mm), com ápice que ultrapassa levemente a borda vertexal por uma distância inferior à sua maior largura, quando dirigidos posteriormente (cabeça em vista dorsal); base do segmento fina, gradualmente dilatada a partir do seu 1/4 basal e atinge o máximo diâmetro na sua metade distal, o qual equivale a quase 2,5 vezes a largura basal. Pedicelo distintamente mais comprido do que o próximo funículo; flagelo com funículos aumentando gradualmente em tamanho, sem diferenciar uma clava terminal, sendo os artículos 2-5 um pouco mais compridos do que largo, 6-7 aproximadamente tão compridos como largos, 8-10 mais largos do que compridos, o funículo apical tão longo quanto os dois anteriores juntos.

Mesosoma. — Mesosoma em vista dorsal com dorso do propódeo lateralmente comprimido, principalmente na parte anterior. Face lateral do mesosoma com uma depressão subvertical no nível da parte anterior da metapleura e da face lateral do propódeo, servindo para acolher os metafêmures na face lateral do tagma.

Mesosoma em vista lateral com comprimento 1,5 vezes maior do que o da cápsula cefálica; perfil dorsal do mesosoma subretilíneo e forma uma leve convexidade contínua, a sutura promesonotal e a sutura metanotal levemente marcados.

Protórax. — Mesosoma em vista dorsal com pronoto de comprimento do pronoto equivalente a cerca de duas vezes o do mesonoto; ausência de carena entre a face dorsal e lateral do noto.

Pronoto em vista lateral com ângulo póstero-ventral reto.

Mesotórax. — Mesosoma em vista lateral com borda anterior da mesopleura formando uma crista bem diferenciada em toda sua extensão; anepisterno e katepisterno não separados por um sulco.

Metatórax. — Mesosoma em vista dorsal com metanoto vestigial, reduzido a um simples elemento transversal situado entre os espiráculos e forma um estreito sulco curvado e afinado na sua região mediana.

Mesosoma em vista lateral com parte anterior da metapleura levemente deprimida ântero-dorsalmente. Espiráculo pequeno, com orifício posteriormente dirigido, reduzido a uma simples fenda no centro de anel elíptico marcado e saliente. Glândula metapleural com orifício muito pequeno, abrindo um ângulo

póstero-ventro-lateral do mesosoma, não coberto dorsalmente por uma dobra cuticular marcada em formato de U.

Propódeo. — Propódeo em vista lateral com perfil dorsal subretilíneo, levemente convexo, seu comprimento com cerca de 1,2 vezes o da face posterior que apresenta um perfil linear, levemente inclinado ântero-dorsalmente e encontra a face dorsal abruptamente segundo um ângulo marcado; face posterior separada das faces laterais por uma forte marginação, sem definir uma carena com ângulo; parte mais anterior da face lateral levemente deprimida ântero-dorsalmente; espiráculo muito pequeno, com orifício póstero-lateralmente dirigido, de forma elíptica cerca de duas vezes mais longo do que largo, o eixo maior ântero-dorsal/ póstero-ventral, e cercado por um anel cuticular oval.

Propódeo em vista posterior com margens póstero-laterais retilíneas e paralelas, somente convergentes na parte mais dorsal da face posterior.

Mesosoma em vista ventral com metasterno exibindo um par de longos processos estreitos e agudos entre meso e metacoxa. Cavidades metacoxais (acetábulo metatorácico) abertas.

Pernas — Pernas relativamente grandes. Metatíbia com ápice ventral com uma grande espora pectinada e uma pequena simples. Garras tarsais simples. Arolias ausentes.

Metasoma. Segmento abdominal II (Pecíolo). — Pecíolo em vista dorsal com nodo de formato coniforme, a face anterior de perfil convexo na sua parte dorsal e achatada na parte ventral, a face posterior achatada e as bordas laterais subretilíneas, anteriormente convergentes.

Pecíolo em vista anterior com perfil dorsal do nodo, formando uma forte convexidade contínua até as faces laterais levemente convexas.

Pecíolo em vista ântero-dorsal com perfil da borda anterior do nodo nitidamente côncava.

Pecíolo em vista lateral com nodo de formato subtriangular, o perfil da face anterior retilínea e oblíqua, encontrando o perfil da face posterior subretilíneo, levemente convexo, com um ângulo agudo e arredondado, mas sem diferenciar uma face dorsal. Perfil da face ventral do esternito diferenciando o processo subpeciolar em um forte lobo, no seu 2/3 anterior

arredondado e fortemente convexo, e no seu 1/3 posterior subretilíneo e levemente convexo; ausência de fenestra.

Gáster. — Gáster em vista dorsal com perfil da face anterior do tergito abdominal III subretilíneo e levemente convexa, encontrando as faces laterais levemente convexas e anteriormente convergentes. Segmento abdominal IV com cerca de 1,3 vezes mais largo do que o terceiro segmento, com perfil das faces laterais levemente convexas e subparalelas entre si.

Gáster em vista lateral relativamente curto, os dois primeiros tergitos de comprimento semelhante. Segmento abdominal III com tergito diferenciando uma face anterior de perfil retilíneo, e vertical que encontra uma face dorsal de perfil levemente convexo, com um ângulo quase reto, mas arredondado; espiráculo minúsculo e subcircular; esternito abdominal III com perfil convexo e de comprimento equivalente a cerca da metade do tergito; perfil do processo subpospeciolar forma um processo triangular agudo relativamente grande, projetado ântero-ventralmente logo abaixo do *helcium*; segmento abdominal III com face anterior convexidade bem marcado, definindo um ângulo de 90° em relação à borda dorsal. Segmento abdominal IV com constrição marcada entre o pré e pós-segumento, sendo o tergito de perfil levemente convexo e o esternito com perfil muito convexo, seu comprimento equivalente a cerca de 1/3 do tergito; órgão estridulatório ausente. Pigídio e Hipopígio de perfil retilíneo, sem dentes. Extremidade saliente do ferrão curvada e pontuda.

Esculturação. Pontuação e Fóveas. — Finas pontuações pilíferas densas (1d/i) pouco cavadas que cobrem inteiramente a superfície da cápsula cefálica (exceto a margem periférica do acetábulo das inserções antenais), dos escapos, das faces laterais e das margens periféricas do dorso do pronoto, das margens anterior e laterais do mesonoto, do anepisterno e do dorso do propódeo, assim como na superfície das margens laterais do dorso do clípeo na sua metade posterior, e do fêmur e tibia das perna onde são ainda mais superficiais; outras mais esparsas (2d/i) na superfície da margem central do dorso do pronoto e do mesonoto; outras ainda mais esparsas (>4d/i) nas mandíbulas lisas e brilhantes, na superfície das mandíbulas, no pecíolo e no gáster. Demais territórios sem a presença desse tipo de macro escultura.

Carenas e carínulas. — Uma carena longitudinal marcada em posição medial na metade anterior do clípeo. Ausência de uma carena longitudinal

marcada na região dorsal das gena. Diversas finas carenas e carínulas longitudinais superficiais na superfície do anepisterno, katepisterno, da metapleura e parte mais ventral das faces laterais do propódeo. Demais territórios sem a presença desse tipo de macro escultura.

Rugas e Rúgulas. — Clípeo em vista dorsal sem rugas na região mediana.

Assento tegumentar. — Assento tegumentar inteiramente liso e brilhante.

Coloração. Cores e brilho. — Corpo com padrão cromático múltiplo. Tegumento com tonalidade geral de cor relativamente escura, com uma dominância preta. Aspecto global brilhante. Cápsula cefálica com padrão bicromático, basicamente preta, e com as regiões das áreas genais pré-ocular dorsal, lateral e subocular, os lobos frontais e o clípeo apresentando uma tonalidade de cor mais clara, marrom avermelhado. Hipóstoma de cor preta na região mediana e marrom avermelhado lateralmente. Mandíbulas com padrão bicromático, sendo basicamente de cor marrom alaranjado, mais escurecido no terço distal da face externa, mas com os dentes marcados por uma pigmentação preta. Olho de cor cinza. Antenas com padrão bicromático, sendo todos os segmentos de cor alaranjada clara, mas com a margem apical dos segmentos 3-9 de cor marrom avermelhado.

Mesosoma com padrão geral tricromático, de cor preta, marrom avermelhado claro e escuro. Pronoto, mesopleura e metapleura com margens externas das faces laterais marcadas por uma pigmentação preta avermelhada. Pernas com padrão monocromático, mais claro que o mesosoma. Pecíolo e gaster com padrão bicromático, sendo basicamente preto com margens dos escleritos alaranjadas, e com o pigídio e o hipopígio de cor alaranjado.

Pilosidade. — Cerdas finas, amarelo-dourada, subdecumbentes, abundantes, muito densas e de ampla distribuição, formando uma pubescência na maior parte do corpo (exceto na região dorsal mediana da cabeça e dorsal mediana do mesosoma).

Cerdas finas, amarelo-dourada, decumbentes, de baixa densidade, com distribuição variada na região mediana dorsal e mediana ventral da cabeça, margem vertexal posterior, escapos, margem mastigatória e região lateral e látero-ventral das mandíbulas, região mediana e margem anterior do clípeo,

região dorsal do mesosoma, região póstero-lateral do propódeo, região ântero-posterior das pernas, dorso do pecíolo, processo subpeciolar (sendo muito mais densas), processo subpospeciolar e gáster.

Gine. LCa: 1 – 1,19 ($\pm 1,11$); CCa: 1,12 – 1,29 ($\pm 1,14$); CO: 0,24 – 0,29 ($\pm 0,26$); CE: 0,77 – 0,95 ($\pm 0,86$); CW: 1,6 – 1,96 ($\pm 1,8$); LMP_r: 0,84 – 0,96 ($\pm 0,88$); LMP_e: 0,6 – 0,74 ($\pm 0,69$); AP_e: 0,56 – 0,75 ($\pm 0,67$); CP_e: 0,37 – 0,46 ($\pm 0,41$); CMa: 0,49 – 0,74 ($\pm 0,64$); CFP_o: 0,87 – 1,11 ($\pm 0,98$).

Morfologia similar à operária, mas com olhos compostos bem desenvolvidos e presença de ocelos, e com tórax e gáster mais desenvolvidos. Cabeça em vista dorsal com bordas levemente convexo, sendo nos seus 2/3 anteriores levemente convergentes anteriormente, e com 1/3 posteriores levemente convergentes posteriormente. Olhos moderadamente globulosos, mas formando uma proeminência saliente. Cápsula cefálica em vista lateral com olhos bem desenvolvidos (com 25 omatídeos no maior diâmetro), subelíptico e posicionado a uma distância da borda anterior da gena equivalente a 1/3 do seu maior diâmetro.

Apêndices cefálicos. — Mandíbulas com formato triangular; borda basal subretilínea no seu 1/3 basal e convexa nos seus 2/3 distais, encontrando a borda apical numa angulação obtusa; borda apical com seis dentes, sendo o dente apical triangular marcado e agudo, seguido por quatro dentes menores, levemente decrescentes até o dente basal que é geralmente pouco desenvolvido com ápice mais ou menos arredondado. Borda externa (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-dorso-lateral) subretilínea no seu 2/3 basal e convexa no seu 1/3 distal. Altura da base da mandíbula (mandíbulas fechadas, a cabeça em vista ântero-dorso-lateral) equivalente ao equivalente ao diâmetro máximo do olho.

Antenas com ápice ultrapassando levemente a borda vertexal por uma distância equivalente ao seu mínimo diâmetro, quando dirigidos posteriormente (cabeça em vista dorsal); base do escapo fina, gradualmente dilatada a partir do seu 1/4 basal e atingindo o máximo diâmetro na sua metade distal, o qual equivale a quase 2,5 vezes a largura basal. Segmento apical do funículo levemente mais longo que os dois anteriores juntos.

Mesosoma. — Mesosoma em vista dorsal com formato subretangular, o perfil das faces laterais levemente convexos e as margens ântero-lateral do dorso do pronoto muito arredondadas.

Mesosoma em vista lateral com comprimento 1,5 vezes maior do que o da cápsula cefálica; perfil dorsal formando uma leve convexidade contínua somente interrompida pela margem anterior levemente saliente do mesonoto, e as suturas promesonotal e metanoto-propodeal pouco marcadas.

Protórax. — Mesosoma em vista dorsal com comprimento do dorso do pronoto equivalente a cerca de 2/3 o do mesoscuto; ausência de carena entre face dorsal e faces laterais do noto.

Pronoto em vista lateral com ângulo posteroventral levemente obtuso.

Mesotórax. — Mesosoma em vista dorsal com mesoscuto de comprimento equivalente a três vezes o do *escuto*; borda anterior formando uma larga convexidade; borda posterior retilínea e contínua; *notauli* ausentes. Sulco *scutal* formando uma larga concavidade anteriormente aberta. Sulcos parapsidiais presentes, marcados e subretilíneo, sendo levemente curvados e diverge anteriormente, sua extremidade anterior atingindo a metade do esclerito.

Scutum e Escutelo - medialmente separado por uma curta faixa cuticular contínua interconectando as axillae que formam duas áreas triangulares bem desenvolvidas ântero-lateralmente ao escutelo. Sulco do escutelo formando uma larga convexidade posteriormente dirigida. Tégula normalmente desenvolvidas, formando dois pequenos triângulos.

Metatórax. — Mesosoma em vista dorsal com metanoto normalmente desenvolvido, limitado a uma curta e larga placa transversa com bordas anteriores e posteriores paralelas e formando uma concavidade anteriormente aberta. Processos do metasterno e cavidades metacoxais não examinados no mesosoma em vista ventral.

Mesosoma em vista posterior com margens póstero-laterais diferenciadas nos seus 2/3 dorsais, sendo retilíneas e dorsalmente divergentes no seu terço mediano e convergente no seu 1/3 dorsal.

Mesosoma em vista lateral com borda anterior da mesopleura formando uma crista retilínea, bem diferenciada; anepisterno e katepisterno separados por um sulco bem marcado que atravessa longitudinalmente a totalidade do

esclerito. Espiráculo circular, diminuto, mas bem visível no fundo de uma pequena depressão, externamente não marcada por um anel cuticular. *Axillae* diferenciando uma pequena face lateral separada da face dorsal por uma forte marginação arredondada e situada logo na base da articulação alar.

Mesosoma em vista lateral com perfil dorsal levemente convexo, seu comprimento cerca de 2/3 o da face posterior. Face posterior separada das faces laterais por uma forte marginação, sem definir uma carena angulada, com perfil subretilíneo, levemente convexo e inclinada ântero-dorsalmente, encontrando o perfil da face dorsal segundo um ângulo relativamente marcado e obtuso. Faces laterais não deprimidas ântero-dorsalmente, mas convergentes posteriormente no nível da *bulla* da glândula metapleural; espiráculo pequeno, com orifício posteriormente dirigido.

Mesosoma em vista lateral com parte anterior da metapleura não deprimida ântero-dorsalmente. Espiráculos pequenos, com orifício pósterolateralmente dirigido, reduzido a uma simples fenda no centro de anel cuticular elíptico pouco marcado e não saliente.

Propódeo. — Mesosoma em vista dorsal com o dorso do propódeo relativamente curto, as faces laterais com perfil subretilíneo e levemente convergente posteriormente.

Pernas. — Pernas semelhantes às das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Asas. — Asas bem desenvolvidas (gine macroptera). Asas mesotorácicas (n=1 parátipo) com nervação: células C, R, 1Cu, 1M, 1Rs, 1R1, 2Cu e 2R1 fechadas, as outras abertas ou ausentes; base de Rs, Cu-a e 2r-m interrompidas por uma *bulla* discreta; lobo claval despigmentado e transparente. Célula *stigma* triangular equilátero de cor marrom claro.

Metasoma. *Segmento abdominal II (pecíolo)*. — Pecíolo em vista dorsal semelhante às das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Pecíolo em vista lateral com nodo de formato subtriangular, perfil da face anterior retilíneo e oblíquo, encontrando o perfil da face posterior retilíneo.

Gáster. — Gáster em vista dorsal com segmento abdominal IV semelhante às das operárias, divergindo pelo tamanho maior.

Gáster em vista lateral relativamente maior do que a operária. Segmento abdominal III com tergito diferenciando uma face anterior de perfil subretilíneo,

levemente convexo; órgão estridulatório ausente; esternito abdominal III com perfil de comprimento equivalente a cerca de 1/3 do tergito. Segmento abdominal IV com esternito de comprimento equivalente à metade do tergito. Pigídio e Hipopígio de perfil retilíneo, sem dentes. Extremidade saliente do ferrão curvada e pontuda.

Esculturação. - Padrão de escultura similar ao das operárias, mas sendo diferenciado em alguns pontos.

Pontuações e Fóveas. — Finas pontuações pilíferas com padrão morfológico e distribuição similar à operaria, inclusive na totalidade do dorso do mesosoma onde a sua densidade é levemente acentuada (<1d/i).

Carenas e Carínulas. — ausência de carena longitudinal em posição medial na metade anterior do clypeus. Ausência de carena na região dorsal das gena. Diversas finas carinas e carínulas longitudinais superficiais no anepisterno, no katepisterno, na metapleura e na parte mais ventral das faces laterais do propódeo.

Rugas e Rúgulas. — Algumas rúgulas longitudinais eventualmente anastomosadas no anepisternum.

Assento tegumentar. — Assento tegumentar inteiramente liso e relativamente fusco.

Coloração. - Cores e brilho. — Semelhante às operárias

Pilosidade. — Semelhante às operárias.

Material tipo examinado

Holótipo: Brasil: São Paulo, Agudos, 7.I.1959, col. C. Gilberti, (WWK n. 2869), (Fotomicrografias de alta resolução por Gabriel Biffi) (uma operária) (MZSP). **Parátipo:** São Paulo, Agudos, 23.II/ 4-XII.1955, col. W. Kempf (Fotomicrografias de alta resolução por Lívia Pires) (uma gine) (MZSP).

Outros materiais examinados

Brasil: Amazônia, Manaus, elev. 32 m., (3° 07' 08" S e 60° 01' 18" O), 8.XII.1993 (uma operária) (CPDC); Amazônia, Manaus, elev. 32 m., (3° 07' 08" S e 60° 01' 18" O), 30.VIII.1962, col. Lenko, K (duas operárias) (MZSP);

Amazônia, Benjamin Constant (Proj. BioBrasil/ GEF/ UNEP), elev. 119 m., (4° 31' 13" e 69° 57' 18" O), col. Zanetti, R & Dias, N (três operárias) (LBSA); Amazônia, Benjamin Constant (Proj. BioBrasil/ GEF/ UNEP), elev. 119 m., (4° 31' 13" e 69° 57' 18" O), III. 2004, col. Zanetti, R & Dias, N (duas operárias) (LBSA); Amazônia, Benjamin Constant, elev. 119 m., (4° 31' 13" e 69° 57' 18" O), col. Zanetti, R & Dias, N (uma operária) (LBSA); Amazônia, Benjamin Constant, elev. 119 m., (4° 31' 13" e 69° 57' 18" O), col. Zanetti, R & Dias, N (uma operária) (LBSA); Bahia, Boa Nova, elev. 725 m., (14° 21' 36" S e 40° 12' 24" O), 2007, col. Correia, JPSO (duas operárias) (CPDC); Bahia, Buerarema (Fazenda dos Prazeres dos Anjos), elev. 483 m., (15° 00' 51" S e 39° 17' 59" O), 27.04.2006, col. Maia, J R, Elisângela, L & Soares, J C (uma operária) (CPDC); Bahia, Ilhéus-Olivença, elev. 39 m., (14° 58' 85" S e 39° 01' 48" O), 16. XI. 1998, col. Santos, J.R.M. (três operárias) (CPDC); Bahia, Ilhéus – Praia São Domingos, elev. 9 m., (14° 45' 40" S e 39° 04' 03" O), 25.XI.1991, col. Forst, M. (duas operárias) (CPDC); Bahia, Ilhéus-Fazenda Santa Maria, elev. 27 m., (5° 10' 48" S e 39° 7' 09" O), 21.III.1992, col. Argolo, AJ. (duas operárias) (CPDC); Bahia, Ilhéus (CEPEC), elev. 87 m., (14° 47' 11" S e 39° 13' 22" O), 19.I.1992, col. Forst, M. (duas operárias) (CPDC); Bahia, Itapetinga, (F. P. Branca), elev. 330 m., (15° 20' 33" S e 40° 01' 20" O), 3.VI.2007, col. Santos, J R M (uma operária); Bahia, Porto Seguro, elev. 17 m., (16° 23' 18" S e 39° 10' O), 24.VII.2007, col. Santos, JRM et al (uma operária e uma gine) (CPDC); Bahia, 23.XI.1999, col. Carmo, JC (duas operárias) (CPDC); Bahia, Una, elev. 71 m., (15° 16' 46" S e 39° 04' 36" O), 7.VIII.1994/ 12.VII.1994, col. Nascimento (duas operárias) (CPDC); Bahia, Una (UnaCau), elev. 73 m., (15° 05' 21" S e 39° 17' 42" O), 11.II.2000, col., Santos, JRM (três operárias) (CPDC); Bahia, Una (Fazenda Wesley), elev. 99 m., (15° 12' 32" S e 39° 11' 45" O), 17.IV.2012, col. Correia, JPSO (uma operária) (CPDC); Bahia, Barrolândia, elev. 109 m., (16° 05' 42" S e 39° 16' 29" O), 16.VII.1994/ 23.VII.1994, col. Lacau, S (duas operárias) (CPDC); Bahia, 9.VI.1997, col. Maiq, JR (uma operária) (CPDC); Bahia, Ubatã, elev. 267 m., (14° 13' 32" S e 39° 27' 5" O), 27.XII.1996, col. Santos, JRM (três operárias) (CPDC); Bahia, Camacan, elev. 179 m., (15° 24' 52" S e 39° 29' 32" O), 5.III.1999, col. Santos, JRM (três operárias) (CPDC); Bahia, Canavieiras, elev. 4 m., (15° 32' 24" S e 39° 00' 39" O), 14.XII.1997, col. Santos, JRM & Carmo, (uma operária) (CPDC); Bahia, Simões Filho, elev. 63

m., (12° 47' 13" S e 38° 24' 11" O), 25.VI.1993, col. Delabie (uma operária) (CPDC); Bahia, Simões Filho, elev. 37 m., (12° 49' 13" S e 38° 10' 11" O), 13.VII.1993, col. Lacau, S (uma operária) (CPDC); Bahia, Canavieiras (Fazenda Lagoa), elev. 6 m., (15° 40' 21" S e 38° 14' 43" O), 11.III.1992, col. Michella, (uma operária) (CPDC); Bahia, Aritaguá, elev. 57 m., (14° 41' 5" S e 39° 4' 33" O), 5.X.1998, col. Santos, JRM & Carmo, JC (duas operárias) (CPDC); Bahia, Igrapiúna (Reserva Michelin), elev. 62 m., (13° 50' 41" S e 39° 06' 45" O), 4.III.2012, col. Correia, JPSO (uma operária) (CPDC); Bahia, Itajuípe (CEPLAC), elev. 157 m., (14° 40' 32" S e 39° 22' 20" O), 4.IV.2012, col. Correia, JPSO (duas operárias) (CPDC); Bahia, Itapetinga, elev. 291 m., (15° 14' 51" S e 40° 14' 53" O), 30.V.1997, col. Santos, JRM (duas operárias) (CPDC); Porto Seguro (ESPAB), elev. 17 m., (16° 26' 39" S e 39° 03' 55" O), 29.IX.2012, col. Correia, JPSO (três gines aladas) (CPDC); Bahia, Una, elev. 73 m., (15° 05' 21" S e 39° 17' 42" O), 21.III.2000, col. Santos, JRM (uma operária) (CPDC); Bahia, Una, elev. 60 m., (15° 10' 21" S e 39° 27' 42" O), 17.IV.2012, col. Correia, JPSO (quatro operárias) (CPDC); Bahia, Valença (Fazenda São João), elev. 10 m., (13° 22' 15" S e 39° 04' 22" O), col. Correia, JPSO (duas operárias) (CPDC); Flor Tijuca, I. 1974, col. Seabra & Alvarenga (uma gine alada) (MZSP); Espírito Santo, Sooretama, elev. 62 m., (19° 11' 35" S e 40° 06' 01" O), 16.IX.2012, col. Correia, JPSO (três operárias) (CPDC); Espírito Santo, Linhares, elev. 22 m., (19° 23' 42" S e 40° 03' 52" O), 1.VIII.1994/ 8.VIII.1994, col. Casimito, AB (duas operárias) (CPDC); Mato Grosso, Utiariti (Rio Papagaio), elev. 385 m., (13° 01' 18" S e 58° 17' 14" O), 10.XI.1966, col. Lenko, K & Pereira (duas operárias e uma gine alada) (MZSP); Mato Grosso, Três Lagoas, elev. 327 m., (20° 47' 17" S e 51° 42' 10" O), 28.VII.1965, col. Exp. Depto. Zoo. (uma operária); Minas Gerais, Ataléia, elev. 239 m., (18° 02' 39" S e 41° 06' 55" O), 27.I.1994, col. Cardoso (uma operária) (CPDC); Mato Grosso, Utiariti (Rio Papagaio), elev. 385 m., (13° 01' 18" S e 58° 17' 14" O), 10.XI.1966, col. Lenko, K & Pereira (uma operária) (CPDC); Minas Gerais, Bom Despacho, elev. 711 m., (19° 44' 20" S e 45° 15' 45" O), VI.2000/ IX.2000, col. Ramos & Marinho, (duas operárias) (CPDC); Minas Gerais, Uberlândia, elev. 840 m., (18° 54' 52" S e 48° 16' 31" O), 23.XI.1962, col. Lenko, K (uma operária) (MZSP); Minas Gerais, Pedra Azul, elev. 834 m., (19° 51' 06" S e 44° 01' 21" O), XI.1972, col. Seabret & Alvarenga (três gines

aladas) (MZSP); Sergipe, 13.VIII.2001, Santos, JRM (uma operária) (CPDC); Pará, Belém, elev. 5 m., (1° 27' 20" S e 48° 29' 24" O), 27.X.2001, col. Lacau, S (duas operárias) (CPDC); Pará; Belém (APEG), (1° 27' 20" S e 48° 29' 24" O), 5.XII.1969, col. Rosa, N (duas operárias e uma gine alada) (MZSP); Pernambuco, Moreno (N3), elev. 104 m., (8° 06' 32" S e 35° 05' 01" O), 28.XI.2012, col. Correia, JPSO (três operárias) (CPDC); Pernambuco, Moreno (N5), elev. 104 m., (8° 06' 32" S e 35° 05' 01" O) 28.XI.2012, col. Correia, JPSO (três operárias) (CPDC); Pernambuco, Moreno (N6), elev. 104 m., (8° 06' 32" S e 35° 05' 01" O) 28.XI.2012, col. Correia, JPSO (três operárias) (CPDC). **Guiana Francesa:** 2010,col. Mariano; V.1997, col. Orivel (duas operárias) (CPDC); XI. 1996, col. Corbara & Dejean & Orivel (uma operária) (CPDC); XI,1996, col. Corbara & Dejean (duas operárias) (CPDC); (2° 42'S), 25.VIII.1936, col. Weber, NA (uma operária) (MZSP); Barragem Petit Saut, elev. 34 m., (5° 03' 45" S e 53° 02' 46" O), 8.VII.1998, col. Dejean (três operárias) (CPDC); 10.VII.1999, col. Durou, S (uma operária) (CPDC); 4.VII.1999, col. Durou, S (uma operária) (CPDC). **Peru:** Puno, Maldonado (Madre de Dios/ Camping Schavacayoc), elev. 3835, (12° 49' 36" S e 69° 22' 14" O), 26.VII.2012, col. Fernandes, IO (uma operária) (CPDC); Puno, Maldonado (Madre de Dios/ Camping Schavacayoc), elev. 3835, (12° 49' 36" S e 69° 22' 14" O), 26.VII.2012, col. Fernandes, IO (uma operária) (CPDC); Puno, Maldonado (Madre de Dios/ Camping Schavacayoc), elev. 3835, (12° 51' 09" S e 69° 22' 00" O), 26.VII.2012, col. Fernandes, IO (uma operária) (CPDC).

Comentários gerais: Poucos estudos existem sobre *P. gilberti*. Essa espécie é facilmente confundida como *P. stigma*, levando a identificações errôneas.

Algumas diagnoses com essas duas espécies foram abordadas em literatura (KEMPF, 1960; MACKAY & MACKAY 2010). Kempf (1960) reportou a grande similaridade dessa espécie com *P. stigma*, propondo uma diagnose entre as espécies. Contudo, a diagnose proposta por Kempf foi confirmada com a sugerida neste trabalho. A diagnose proposta por Mackay & Mackay (2010) apresenta falhas e dados contraditórios. Segundo Mackay & Mackay (2010) os machos de *P. gilberti* são menores e cor marrom mais claro comparado os machos maiores e coloração marrom escuro.

No Brasil, *P. gilberti* apresentam a mesma distribuição de *P. stigma*, vivendo simpatricamente. Apesar de sua ampla distribuição, essa espécie não apresentou uma grande variação morfológica. A única variação drástica observada foi à presença de tamanho reduzido e coloração mais clara das amostras provenientes de biomas diferentes.

Distribuição geográfica: *Pseudoponera gilberti* pode ser encontrada na América do Sul, sendo registrados no Panamá, Colômbia, Equador, Peru, Trinidad e Tobago, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Brasil (MACKAY & MACKAY, 2010).

Neste estudo foram analisadas amostras do Peru, Guiana Francesa e Brasil. No entanto, no Brasil foram registrados na Floresta Amazônica, Cerrado e Mata Atlântica (Figura III. 12).

História Natural: Espécimes de *P. gilberti* foram encontrados forrageando em florestas secundárias, inundadas, desmatadas e, com elevação entre zero a 325 metros ao nível do mar (MACKAY & MACKAY, 2010). Espécimes coletadas, na cidade de Madre de Dios – Peru, por Itanna Fernandes e doadas para este estudo, foram encontradas nidificadas a 3835 metros ao nível do mar.

Colônias dessa espécie nidificam, geralmente, em troncos de árvores apodrecidos. Foram encontradas colônias associadas com indivíduos de cupim do gênero *Nasutitermes* (MACKAY & MACKAY, 2010) e Kempf (1962) coletou gines entre os meses de fevereiro, julho e dezembro.

Durante a expedição de coletas na cidade Sooretama-ES, em um tronco de árvore em decomposição, foi reportado uma colônia de *P. gilberti* associada com *Rasopone arhuaca*.



Figura III. 7: A-C: Imagens do holótipo (operária) de *P. gilberti* (Brasil: São Paulo: Agudos). A – cabeça em vista dorsal; B – etiqueta; C – lateral. Foto por Gabriel Biffi. (MZSP).

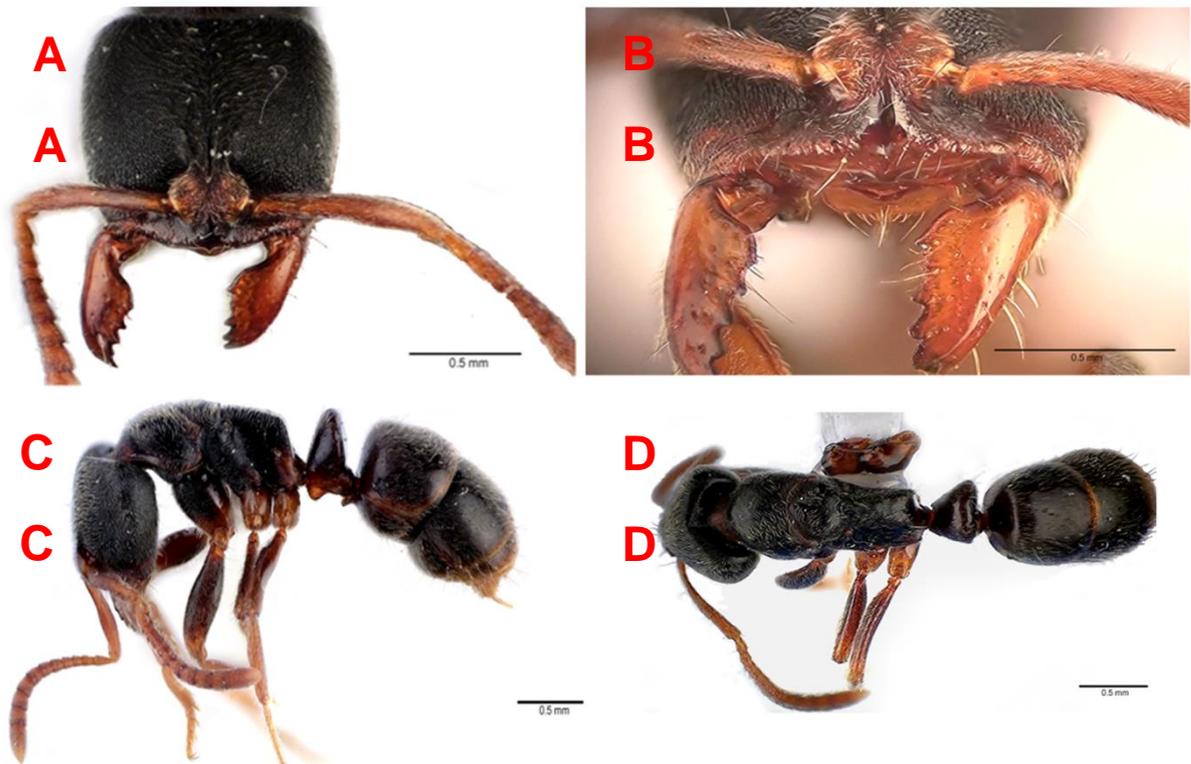


Figura III. 8: A - D: Imagens da operária de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Ilhéus–Olivença). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – lateral; D – dorsal. (CPDC).

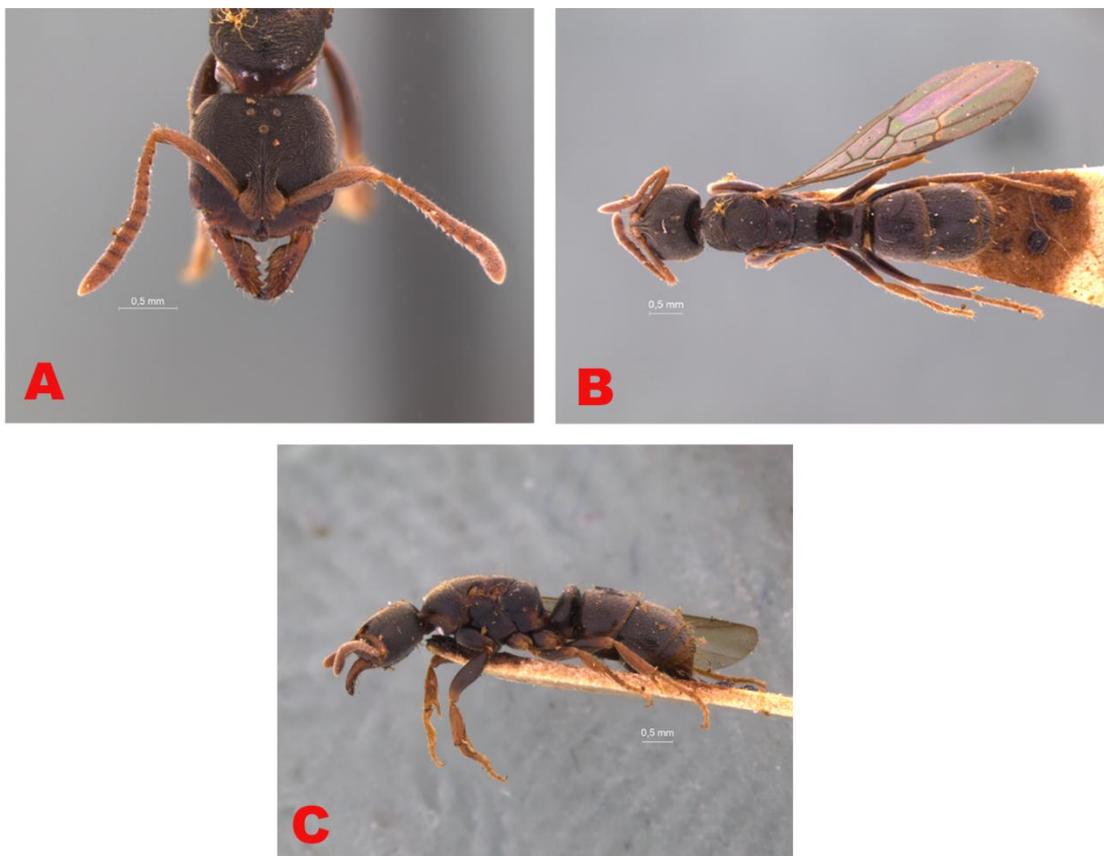


Figura III. 9: A-C: Imagens do parátipo (gine) de *P. gilberti* (Brasil: São Paulo: Agudos). A – cabeça em vista dorsal; B – dorsal; C – lateral. Foto por Lívia Prado. (MZSP).

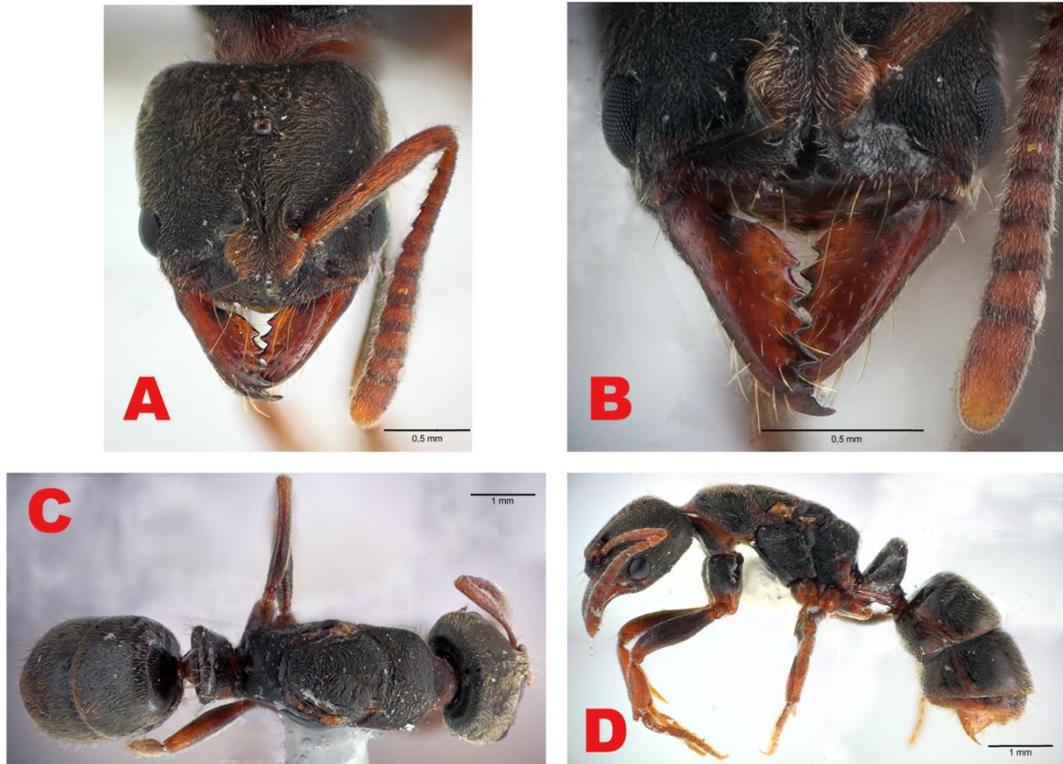


Figura III. 10: A - D: Imagens da gine de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Porto Seguro). A – cabeça em vista dorsal; B – mandíbula em vista dorsal; C – dorsal; D – lateral. (CPDC).



Figura III. 11: Imagem da asa mesotorácica da gine de *P. gilberti* (Brasil: Bahia: Porto Seguro). (CPDC).



Figura III. 12: Distribuição dos espécimes analisados de *P. gilberti*.

III. 5. REFERÊNCIAS

- ANTWEB, 2014. Projects AntWeb's catalogs. Disponível em: [http:// http://www.antweb.org/](http://http://www.antweb.org/). Acessado em 27 de junho de 2014.
- DE ANDRADE, M. L. & BARONI-URBANI. Diversity and adaptation in the ant genus *Cephalotes*, past and present. **Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde. Serie B (Geologie und Paläontologie)** 271:1-889. 1999.
- BOLTON, B. Identification guide to the ant genera of the World. **Harvard University Press**, 222 . 1994.
- BOLTON, B.. A New General catalogue of the Ants of the Word. **Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts**. 504 pp. 1995.
- BOLTON, B. Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of the American Entomological Institute* 71:1-370. 2003.
- BOLTON, B. How to conduct large-scale taxonomic revisions in Formicidae. P.52-71 in Snelling, R. R., B. L. Fisher and P. S. Ward. *Advances in ant systematics (Hymenoptera: Formicidae): Homage to E.O. Wilson - 50 years of contributions. Memoirs of the American Entomological Institute*, 80. 2007.
- BOLTON, B. and ALPERT, G. D. **Barry Bolton's Synopsis of the Formicidae and Catalogue of Ants of the World**, acesso em 1 Julho de 2012:<http://gap.entclub.org/>. 2012.
- BRANDÃO, C. R. F. Adendos ao catálogo abreviado das formigas da região Neotropical (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de entomologia** 35: 319-412. 1991.
- BRANDÃO, C.R.F. Major regional and type collections of ants (Formicidae) of the world and sources for the identification of ant species. *In: Agosti, D.; Majer, J.D.; Alonso, L.E. & Schultz, T.R. (Eds). Ants: Standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian Institution Press. Washington, DC. p. 172-269. 2000.
- CLARK, J. New Formicidae, with notes on some littler-known species. **Proceedings of the Royal society of Victoria** 43: 2-25. 1930.
- EADY, R.D. Some illustrations of microsculpture in the Hymenoptera. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A**, 43:66-72. 1968.

- EMERY, C. Mission scientifique de M. Ch. Alluaud aux îles Séchelles (mars, avril, mai 1892). 2e mémoire. Formicides. **Annales de la Société Entomologique de France** 63:67-72. 1894.
- EMERY, C. Studi Sulle Formiche della fauna neotropical .XVII-XXV. **Bullettino della Società Entomologica Italiana**, 28: 33-107. 1896.
- EMERY, C. Formicidarum species novae vel minus cognitae in collectione Musaei Nationalis Hungarici quas in Nova-Guinea, colonia germanica, collegit L. Biró. Publicatio secunda. **Természetrázi Füzetek**, 23:310-338. 1900.
- EMERY, C. Formiche raccolte da Elio Modigliani in Sumatra, Engano e Mentawai. [concl.]. **Annali del Museo Civico di Storia Naturale** 40:721-722. 1901.
- EMERY, C..Hymenoptera, Fam. Formicidae, Subfam. Ponerinae.In: Wytzman, P. (Eds.). **Genera Insectorum, Bruxelles**, 118: 1- 125. 1911.
- FABRICIUS, J. C. Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus. Brunsvigae, **Apud Carolum Reichard**, 30pp. Ants - 395-428. 1804.
- FERNANDES, I. O.; OLIVEIRA, de L. M.; DELABIE, J. H. Ch. Description of two new species in the Neotropical *Pachycondyla foetida* complex (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) and taxonomic notes on the genus. 2014.
- FOREL, A.. Formicidae. [part]. **Biologia Centrali-Americana Hym.** 3:1-24. 1899.
- FOREL, A. Formiciden aus dem Bismarck-Archipel, auf Grundlage des von Prof. Dr. F. Dahl gesammelten Materials. **Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin** 2:4-37. 1901.
- FOREL, A. Catálogo systemático da collecção de formigas do Ceará. **Boletim do Museu Rocha** 1(1):62-69. 1908.
- FOREL, A. Formicides Néotropiques. Part 1. **Annales de la Société Entomologique de Belgique** 56: 28-49. 1912.
- HARRIS, R.A. **A glossary of surface sculpture**. Occasional Papers of the Bureau of Entomology of the California Department of Agriculture, 28: 1-32. 1979.

- KELLER, R. A. A Phylogenetic analysis of ant Morphology (Hymenoptera: Formicidae) with Special Reference to the Poneromorph Subfamilies. **BioOne**, 355: 1-90. 2011.
- KEMPF, W. W. Miscellaneous studies on neotropical ants. II (Hymenoptera, Formicidae). **Studia Entomologica** 5: 1-38. 1960.
- KUGLER, C. A revision of the ant genus *Rogeria* with description of the sting apparatus (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Hymenoptera Research**, 3:17-89. 1994.
- LONGINO, J.T. 2005. **Ants of Costa Rica**. Publicação eletrônica. Disponível em: <http://www.evergreen.edu/ants/AntsofCostaRica.html>. (Acessado em 20 de Julho de 2013).
- MANN, 1916.
- MACKAY, W; MACKAY, E. The Systematics and Biology of the New World Ants of the Genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae). **The Edwin Mellen Press**, Lewiston, NY, USA, 2010.
- MARIANO, C. dos S. F.; POMPOLO, S. das G.; SILVA, J. G.; DELABIE, J. H. Ch. Contribution of Cytogenetics to the Debate on the Paraphyly of *Pachycondyla* spp. (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). **Psyche**, 9. 2012.
- OLIVEIRA, M. de L. **Taxonomia Integrativa em espécies de *Pheidole* Westwood, 1839 da Mata Atlântica. Dissertação do mestrado apresentada à UESC, Ilhéus, Bahia. 257f. 2013.**
- OLIVEIRA, P.S.; OBERMAYER, M.; HÖLLDOBLER, B. Division of labor in the neotropical ant, *Pachycondyla stigma* (Ponerinae), with special reference to mutual antennal rubbing between nestmates (Hymenoptera). **Sociobiology**, 31 (1), 9–24. 1998.
- ROGER, J. Die *Ponera*-artigen Ameisen. **Berliner Entomologische Zeitschrift** 4:278-312. 1860.
- ROGER, J. Synonymische Bemerkungen. 1. Ueber Formiciden. **Berliner Entomologische Zeitschrift** 6:283-297. 1862.
- ROGER, J. Die neu aufgeführten Gattungen und Arten meines Formiciden-Verzeichnisses nebst Ergänzung einiger früher gegebenen Beschreibungen. **Berliner Entomologische Zeitschrift** 7: 131-214. 1863.

- ROHLF, F. J. **TpsUtil, file utility program. version 1.26**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2004.
- SANTSCHI, F. Hyménoptères. Formicides. Pp. 33-43 in: André, Ern. et al. 1913. Mission du service géographique de l'armée pour la mesure d'un arc de méridien équatorial en Amérique du Sud. Tome 10. Fasc. 1. **Insectes. Paris: Gauthier-Villars**, 119 pp. 1913.
- SCHMIDT, C. A.; SHATTUCK, S. O. The Higher Classification of the Ant Subfamily Ponerinae (Hymenoptera: Formicidae), with a Review of Ponerinae Ecology and Behavior. **Zootaxa**, 1: 1-242. 2014.
- SMITH, F. Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum. Part VI. Formicidae. **London: British Museum**, 216. 1858.
- SMITH, F. Catalogue of hymenopterous insects collected by Mr. A. R. Wallace at the islands of Aru and Key [part]. Journal and Proceedings of the Linnean society of London. **Zoology** 3: 132-158. 1859.
- SMITH, M. R. Ponerine ants of the genus *Euponera* in the United States. **Annals of the Entomological Society of America** 27: 557-564. 1934.
- WHEELER, W. M. The ants of Cuba. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology** 54:477-505. 1913.
- WHEELER & MANN, 1914.
- WHEELER, G. C; WHEELER, J. The ant larvae of the subfamily Ponerinae - **Part I. American Midland Naturalist**, 48:111-144. 1952.
- WHEELER, G. C.; WHEELER, J. Supplementary studies on ant larvae: Ponerinae. **Transactions of the American Entomological Society**, 102:41-64. 1976.
- WETTERER, J. K. Worldwide spread of the *stigma* ant *Pachycondyla stigma* (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, 16: 39-44). 2012.
- WILD, A.L.The genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae) in Paraguay. **Boletín del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay**, 14: 1-18. 2002.
- WILD, A. L. Taxonomic revision of the *Pachycondyla apicalis* species complex (Hymenoptera: Formicidae). **Zootaxa**, 834: 1-25. 2005.
- WILSON, E. O. A monographic revision of the ant genus *Lasius*. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, 113:1-201. 1955.

WILSON, E. O. Studies on the ant fauna of Melanesia III. Rhytidoponera in western Melanesia and the Moluccas. IV. The tribe Ponerini. **Cambridge, mass., USA.** Vol. 119 (4): 304-371. 1958.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A combinação de análises morfológicas, citogenéticas e moleculares permitiu a delimitação de *P. stigma* e *P. gilberti*. Essas análises foram feitas com base em espécies-tipo e espécimes de diferentes localidades na região neotropical e no Velho Mundo.

Foram apresentadas as redescrições para *P. stigma* e *P. gilberti* e reunidos dados morfológicos que servirão também como base para futuros estudos em *Pseudoponera*. Aqui não foi abordado os sinônimos que formam o complexo *Pseudoponera stigma*, sendo necessário um estudo mais abrangente, revisando e observando possíveis variações ou caracteres morfológicos úteis para esclarecer as sinonímias pertencentes a este grupo.

A partir desse estudo, essas espécies poderão ser mais facilmente distinguidas pelas observações de caracteres presentes nas mandíbulas, no clípeo e nos lobos frontais.

Da mesma forma, as análises de citogenética permitiram delimitar essas espécies, pelas diferenças observadas no número, na morfologia e nos padrões de bandas CMA3⁺/DAPI⁻ dos cariótipos.

Por outro lado, as amostras montadas originadas dos museus e coleções não serviram para ampliar as análises moleculares. A deterioração interna desses exemplares é o principal motivo, assim, permanecendo somente o exoesqueleto e invalidando a extração do DNA. Essa deterioração é promovida pela data avançada ou pelo o ataque de fungos nos espécimes.

Os dados filogenéticos também permitiram distinguir essas duas espécies. A análise agrupou cada espécie em um clado e distinguiu os espécimes oriundos da Mata Atlântica e Floresta Amazônica. Tais distinções foram acompanhadas pela variação no tamanho e coloração. Assim, um estudo filogeográfico com amostras coletadas em ampla distribuição deve ser foco de futuros estudos, com a finalidade de verificar o processo histórico responsável pela distribuição geográfica atual.

Futuros estudos moleculares com *Neoponera bucki* serão necessários para testar sua atual classificação. Neste estudo, a formação do clado por *N. bucki* + *Leptogenys arcuata* tem chamado atenção, já que *N. bucki* foi descrita dentro do gênero *Leptogenys*. Um estudo filogenético com inclusão de um

maior número de táxons pertencentes a esses gêneros examinarão com maior segurança este resultado.

Por fim, os resultados obtidos neste estudo demonstra a importância da abordagem multidisciplinar para o entendimento de espécies muito próximas.